



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTRONGILIDOSE EM EXPLORAÇÕES EQUINAS COM VOCAÇÃO TAUROMÁQUICA

GONÇALO DANIEL DOS SANTOS FROUCO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

Dr. António Carlos Pinto Farrim

ORIENTADOR:

Dr. António Carlos Pinto Farrim

CO-ORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2011

LISBOA

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTRONGILIDOSE EM EXPLORAÇÕES EQUINAS COM VOCAÇÃO TAUROMÁQUICA

GONÇALO DANIEL DOS SANTOS FROUCO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

Dr. António Carlos Pinto Farrim

ORIENTADOR:

Dr. António Carlos Pinto Farrim

CO-ORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2011

LISBOA

---

## Agradecimentos

Ao Dr. Antonio Carlos Pinto Farrim, por ter aceite o meu pedido de orientação, pela oportunidade de observar e realizar procedimentos na clínica e sanidade de equinos, bovinos e ovinos e por todos conhecimentos transmitidos.

Ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, por ter aceite o meu pedido de orientação, pela sugestão do tema deste trabalho, por toda a disponibilidade e contributo para a sua realização e por todos os seus ensinamentos.

À administração da Companhia das Lezírias, S.A., e ao engenheiro Francisco Perestrelo por terem autorizado o estágio, e aos funcionários e ao colega Pedro Reis pela boa disposição, camaradagem e disponibilidade para ajudar demonstrada durante o meu estágio curricular.

Aos cavaleiros que participaram neste estudo, por terem permitido a recolha das amostras necessárias à realização deste trabalho e por toda a simpatia, disponibilidade e interesse que demonstraram.

À Dr<sup>a</sup> Lídia Gomes, pela sua disponibilidade e auxílio na execução das técnicas laboratoriais e pela sua boa disposição.

Ao Dr. Telmo Nunes pela sua ajuda na realização da parte estatística deste trabalho.

A todos os meus amigos que me acompanharam neste percurso, especialmente ao Diogo Pereira, Jessica Gonçalves, João Machado, Francisco Conceição, Ricardo Godinho e Tiago Santos.

E a ti Inês, por toda ajuda, apoio e dedicação, tanto na elaboração deste trabalho como nos pequenos pormenores do dia-a-dia, que fazem de ti uma pessoa especial.

Aos meus pais, Libório e Maria Isabel, à minha irmã, Sofia, e à minha avó, Aida, pela educação, apoio e afecto que me têm dado ao longo dos anos.



## **Resumo - Estrongilidose em explorações equinas com vocação tauromáquica**

Portugal possui grande tradição na produção equina, nomeadamente na criação e trabalho de cavalos de toureio. Estes equinos são verdadeiros atletas e, como tal, especial atenção deve ser dada à sua saúde. As parasitoses gastrointestinais, em particular a estrongilidose, são uma ameaça constante e afectam a sua saúde, bem-estar e desempenho.

Após o declínio, durante as últimas décadas, da infecção por grandes estrongilídeos, em consequência do uso generalizado e intensivo de anti-helmínticos, os ciatostomíneos tornaram-se o parasita gastrointestinal de equinos mais comum e importante. Este crescente relevo deve-se às suas elevadas prevalências em todo o mundo e ao desenvolvimento de resistências à maioria dos anti-helmínticos. Face a este problema, os proprietários dos cavalos e médicos veterinários devem estar mais atentos à biologia e epidemiologia dos estrongilídeos, de modo a desenvolverem um correcto programa de sanidade animal.

Para um maior conhecimento da epidemiologia dos estrongilídeos em Portugal, foi realizado um estudo envolvendo 67 cavalos de vocação tauromáquica, distribuídos por 8 explorações localizadas no Ribatejo e Oeste. Durante um período de 11 meses (Julho de 2010 a Maio de 2011) foram colhidas amostras fecais de modo individual a cada cavalo em cada estação do ano e 1/2 dias antes e 2/3 dias depois de uma corrida de touros. Foram analisadas segundo as técnicas coprológicas quantitativas, pelo método de MacMaster, e qualitativas, por flutuação (Willis) e sedimentação natural. Foram ainda realizadas coproculturas para identificação de L3.

Os cavalos de toureio analisados apresentaram um OPG médio de 396 e uma prevalência média anual de 66%, sendo que 91% do total de animais e 100% das explorações estavam parasitados pelo menos uma vez durante o período de estudo. O género *Cyathostomum sensu lato* foi o mais abundante (97.3%) e prevalente (53.9%). Nenhuma larva infectante do género *Strongylus* foi identificada. O Verão e o Outono foram as épocas em que se registaram valores máximos de OPG médio.

Foram estudados 2 factores de risco na estrongilidose. A idade encontra-se negativamente correlacionada com número de OPG, havendo uma tendência para que as infecções moderadas e maciças estejam presentes nos animais mais jovens. O stress inerente a corrida de touros parece ser responsável pelo aumento de OPG observado após a actuação.

Os resultados no presente trabalho revelaram que o parasitismo por estrongilídeos, nomeadamente por ciatostomíneos, em cavalos de toureio é extremamente importante e prevalente, e poderão auxiliar a elaboração de um adequado programa de controlo parasitários nestes cavalos.

Palavras-chave: estrongilídeos; cavalos de toureio; epidemiologia; corrida de touros.

## **Abstract – Strongylidosis on farms of bullfighting horses**

Portugal has a great tradition in equine production, particularly of bullfighting horses. These horses are true athletes, and should be given special attention to their health. Gastrointestinal parasites, especially strongyle, are a constant threat and affect their health, well-being and performance.

After the declining of large strongyle infection over the last decades, as a result of widespread and intensive use of anthelmintics, the cyathostome became the most common and important gastrointestinal parasites of horses. The importance of cyathostome is due to its high prevalence worldwide and the development of resistance to most anthelmintics. Faced with this growing problem, the owners of horses and veterinarians must be increasingly attentive to the biology and epidemiology of strongyle infection in order to develop a correct and effective animal health program.

For a better understanding of the epidemiology of strongyle in Portugal, was developed a study involving 67 bullfighting horses, spread over 8 farms from Ribatejo and Oeste. For a period of 11 months (July 2010 to May 2011) were collected fecal samples from each horse in each season and one or two days before and two or three after the bullfighting show, and analyzed using the coprological techniques quantitative (MacMaster) and qualitative (Willis flotation and natural sedimentation). Fecal cultures were also performed to identify L3.

Bullfighting horses examined had an average EPG of 396 and an average annual prevalence of 66%. 91% of all animals and 100% of farms were found to be infected at least once during the study period. The genus *Cyathostomum sensu lato* was the most abundant (97.3%) and prevalent (53.9%). No infective larvae of the genus *Strongylus* were identified. The summer and autumn were the times when there were maximum values of average EPG (eggs per gram).

Two risk factors for infection with *Strongylus*, were studied. Age is negatively correlated with number of EPG, with a tendency for the moderate and severe infections in younger animals. Stress inherent in the bullfighting appears to be responsible for the increase in EPG.

The results of this work showed that strongyle parasitism, particularly by cyathostome in bullfighting horse, is extremely important and prevalent, and could help the development of an appropriate parasite control program on these horses.

**Keywords:** strongyles; bullfighting horses; epidemiology; bullfight.

# Índice geral

1. Actividades desenvolvidas durante o estágio .....	1
1.1. Companhia das Lezírias, S.A. ....	1
1.1.1. Equinos .....	1
1.1.2. Bovinos .....	1
1.1.3. Ovinos .....	2
1.2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (FMV-UTL) .....	2
2. Introdução .....	3
3. Objectivos do estudo .....	4
4. Revisão bibliográfica .....	5
4.1. Sistemática e taxonomia .....	5
4.1.2. Subfamília Strongylinae Railliet, 1885 .....	5
4.1.3. Subfamília Cyathostominae Nicoli, 1927 .....	7
4.2. Epidemiologia da infecção por estrongilídeos .....	9
4.3. Ciclo-biológico .....	10
4.3.1. Ciclo de vida no exterior .....	11
4.3.2. Ciclo de vida no hospedeiro .....	17
4.4. Efeitos patogénicos da infecção por estrongilídeos .....	21
4.4.1. Patogenia .....	21
4.4.2. Sinais clínicos e laboratoriais .....	24
4.5. Diagnóstico da estrongilidose .....	26
4.5.1. Técnicas coprológicas .....	26
4.6. Controlo da estrongilidose em equídeos .....	28
4.6.1. Anti-helmínticos .....	29
4.6.2. Desenvolvimento de resistências aos anti-helmínticos .....	30
4.6.3. Recomendações para um controlo adequado da estrongilidose equina .....	31
5. Material e métodos .....	34
5.1. Delineamento do estudo .....	34
5.2. Animais e explorações .....	35
5.3. Caracterização climática da área em estudo .....	36
5.4. Colheita de informação por inquérito de exploração .....	38
5.5. Análises coprológicas .....	38
5.5.1. Colheita e armazenamento das amostras .....	38
5.5.2. Coprologia qualitativa e quantitativa .....	38
5.5.3. Coproculturas .....	40
5.6. Análise estatística .....	41
6. Resultados .....	42
6.1. Aspectos globais .....	42
6.2. Idade e nível de infecção .....	43
6.3. Coproculturas .....	44
6.4. Prevalência e contagem de ovos fecais nas diferentes explorações .....	45
6.5. Dinâmica do número de OPG e de L3/g ao longo do ano .....	46
6.6. Influência das corridas de touros na contagem de ovos fecais .....	50
6.7. Inquérito .....	51
7. Discussão de resultados .....	52
7.1. Nível de parasitismo .....	52
7.2. Dinâmica do nível de parasitismo ao longo do ano .....	55



7.3. Influência das corridas na eliminação de ovos nas fezes.....	56
7.4. Medidas de controlo parasitário praticado nas explorações.....	57
8. Conclusão.....	60
Bibliografia.....	61
Anexo 1 – Inquérito.....	71
Anexo 2 – Método de flutuação de Willis .....	73
Anexo 3 – Método de sedimentação natural .....	74
Anexo 4 – Método de MacMaster .....	75
Anexo 5 – Coproculturas.....	76
Anexo 6 – Identificação das L3 .....	77

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1</b> - Idade dos equinos em estudo.....	35
<b>Gráfico 2</b> - Temperatura do ar referente ao período de 1971 a 2000, Santarém (IM, 2011). ..	36
<b>Gráfico 3</b> - Precipitação referente ao período de 1971 a 2000, Santarém (IM, 2011). .....	36
<b>Gráfico 4</b> - Distribuição de frequências de OPG das 280 amostras fecais. ....	42
<b>Gráfico 5</b> - Distribuição de frequências de L3/g das 280 amostras fecais.....	42
<b>Gráfico 6</b> - Relação entre infecções fracas e moderadas/maciças e idade dos cavalos .....	43
<b>Gráfico 7</b> - Relação entre a média de OPG e idade de cada cavalo.....	44
<b>Gráfico 8</b> - Abundância proporcional dos diferentes géneros/espécies de strongilídeos. ..	44
<b>Gráfico 9</b> - Prevalência larvar dos diferentes géneros/ espécies de strongilídeos. ....	45
<b>Gráfico 10</b> - Prevalência larvar dos diferentes tipos de <i>Cyathostomum s.l.</i> ....	45
<b>Gráfico 11</b> - Prevalência das diferentes explorações equinas. ....	46
<b>Gráfico 12</b> - OPG médios das diferentes explorações.....	46
<b>Gráfico 13</b> - Evolução do OPG médio nas diferentes estações do ano. ....	47
<b>Gráfico 14</b> - Evolução de L3/g nas diferentes estações do ano.....	47
<b>Gráfico 15</b> - Evolução do OPG médio das explorações em estudo. ....	48
<b>Gráfico 16 a 23</b> - Evolução do OPG individual de cada exploração. ....	49
<b>Gráfico 24</b> - Comparação do OPG médio de cada exploração antes e depois de uma corrida .....	50
<b>Gráfico 25</b> - Comparação do OPG médio global dos cavalos analisados antes e depois de uma corrida de touros. ....	50

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Género e espécies válidas da subfamília Cyathostominae .....	8
<b>Tabela 2</b> - Sobrevivência das formas de vida livre de strongilídeos em diferentes condições climáticas.....	14
<b>Tabela 3</b> - Níveis de infecção e número de OPG.....	27
<b>Tabela 4</b> - Anti-helmínticos para equinos utilizados no controlo de strongilídeos.....	29
<b>Tabela 5</b> - Eficácia dos anti-helmínticos utilizados no controlo de strongilídeos.....	32
<b>Tabela 6</b> - Duração do período de reaparecimento de ovos (PRO) após tratamento com diferentes anti-helmínticos .....	34
<b>Tabela 7</b> - Sexo e raça dos 67 cavalos estudados.....	35
<b>Tabela 8</b> - Frequência e idade do nível de infecção definido como categoria de OPG. ....	43
<b>Tabela 9</b> - Controlo parasitário praticado em 2010/ 2011 e intensidade de corridas de touros em cada exploração.....	51
<b>Tabela 10</b> - Prevalência de strongilídeos em diferentes países. ....	53

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Interações entre grandes strongilídeos em 3 regiões do intestino .....	10
<b>Figura 2</b> - Ovos do tipo strongilídeo (original) .....	11
<b>Figura 3</b> -Ovos do tipo strongilídeo (original) .....	11
<b>Figura 4</b> - Desenvolvimento das formas de vida livre de strongilídeos (original) .....	12
<b>Figura 5</b> - Larva infectante (L3) de <i>Cyathostomum s.l.</i> (tipo A) (original) .....	16
<b>Figura 6</b> - Localização das explorações equinas .....	35
<b>Figura 9</b> - Média da temperatura média do ar em Portugal continental nos meses em que decorreu o estudo. ....	37
<b>Figura 10</b> - Filtração das fezes diluídas em solução saturada de açúcar (original). ....	39
<b>Figura 11</b> - Enchimento das câmaras de de MacMaster (original). ....	39
<b>Figura 13</b> - Observação de ovos do tipo strongilídeo após técnica de flutuação (original). ....	39
<b>Figura 12</b> - Realização da técnica de flutuação (original). ....	39
<b>Figura 14</b> - Coloração do sedimento com azul metileno (original). ....	40
<b>Figura 16</b> - L3 ( <i>Gyalocephalus capitatus</i> ) obtida na coprocultura (original). ....	41
<b>Figura 15</b> - Coprocultura preparada para ser colocada na estufa (original). ....	41
<b>Figura 18</b> - <i>Cyathostomum s.l.</i> tipo A (original) .....	55
<b>Figura 17</b> - <i>Cyathostomum s.l.</i> tipo D (original) .....	55

## Índice de anexos

Anexo 1 – Inquérito .....	71
Anexo 2 – Método de flutuação de Willis .....	73
Anexo 3 – Método de sedimentação natural .....	74
Anexo 4 – Método de MacMaster .....	75
Anexo 5 – Coproculturas .....	76
Anexo 6 – Identificação das L3 .....	77

## Índice de abreviaturas e símbolos

%	percentagem
°C	graus centígrados
$\sigma$	desvio padrão
d	dias
g	grama
Kg	quilograma
h	horas
m	metro
cm	centímetro
mm	milímetro
$\mu\text{m}$	micrómetro
COF	contagem de ovos fecais
<i>Cyathostomum s.l.</i>	<i>Cyathostomum sensu latum</i>
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
L1	larva do primeiro estágio
L2	larva do segundo estágio
L3	larva do terceiro estágio
L4	larva do quarto estágio
L5	larva do quinto estágio
LI3	larva inicial do terceiro estágio
LT3	larva tardia do terceiro estágio
LI4	larva inicial do quarto estágio
LT4	larva tardia do quarto estágio
OPG	ovos por grama
p.i.	pós-infecção
PRO	período de reaparecimento de ovos
UTL	Universidade Técnica de Lisboa



# **Estrongilidose em explorações equinas com vocação tauromáquica**

## **1. Actividades desenvolvidas durante o estágio**

O curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária culmina com a realização de um estágio curricular, bem como a preparação de uma dissertação e sua defesa.

### **1.1. Companhia das Lezírias, S.A.**

O estágio curricular decorreu de 1 de Outubro de 2010 a 28 de Fevereiro de 2011 e foi realizado na “Companhia das Lezírias, S.A.” (CL), sob a orientação científica do Dr. António Carlos Pinto Farrim, na área de clínica e sanidade de equinos e bovinos de carne. Durante este período foram realizadas actividades de diagnóstico e tratamento, sanidade e profilaxia animal, gestão de efectivos, elaboração de orçamento para 2011 e outras tarefas administrativas.

#### **1.1.1. Equinos**

Nos equinos foram efectuadas acções de sanidade, tais como vacinações anti-tetânicas e anti-influenza equina, e administração de anti-helmínticos (ivermectina e praziquantel). Procedeu-se, ainda, à colheita de sangue para um trabalho de investigação a decorrer na Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL).

Foram realizadas actividades de identificação de equinos, nomeadamente resenhos para documentação oficial, colocação de “micro-chip” e colheitas sanguíneas para inscrição dos poldros no “*stud-book*” da raça Puro Sangue Lusitano.

A maioria dos casos clínicos observados nestes animais envolveram o aparelho músculo-esquelético (claudicações). Ferimentos nos membros e flanco e cólica também foram observados. Em relação às pequenas cirurgias, realizaram-se uma sutura a um ferimento no flanco e uma extracção de dentes de lobo.

Durante o período de estágio, além de terem sido efectuadas actividades de manejo do dia-a-dia, também se auxiliou no desbaste de poldros.

#### **1.1.2. Bovinos**

Acções de sanidade, como vacinação, recolha de sangue para rastreio de brucelose e leucose enzoótica, e provas de intradermotuberculinização, foram realizadas nesta espécie.

Os 3 casos clínicos mais diagnosticados foram: traumatismos, queratoconjuntivite infecciosa e partos distócicos. Nestas situações procedeu-se igualmente ao tratamento, nas duas primeiras, e à realização de manobras tocológicas na última.

Foram realizadas actividades de maneio e foram transmitidas informações de gestão de efectivo e de pastagens durante o período de estágio.

### **1.1.3. Ovinos**

Apesar da Companhia das Lezírias não possuir o efectivo ovino de outros tempos, algumas cabeças permanece como propriedade de caseiros. Nesta espécie procedeu-se à vacinação para a língua azul e recolheu-se sangue para rastreio de brucelose.

## **1.2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (FMV-UTL)**

O estágio que decorreu no laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UTL teve como principal objectivo o processamento das amostras fecais de cavalos de toureio e inseriu-se no âmbito do trabalho de investigação da dissertação de mestrado. Assim, foram realizadas as seguintes técnicas coprológicas: método de flutuação (Willis), método de MacMaster, método de sedimento natural e coproculturas. Procedeu-se ainda à contagem e identificação das larvas obtidas nesta última técnica.

## 2. Introdução

Nos últimos 20 anos as explorações coudélicas sofreram alterações. O sistema de pastoreio tornou-se mais intensivo, com uma maior concentração de cavalos por hectare, o que potencia a transmissão de parasitas e o desenvolvimento de resistência aos anti-parasitários, e cria novos desafios para o controlo das parasitoses, em particular as gastrointestinais. Outra modificação detectada nas últimas décadas na produção equina em Portugal foi que explorações coudélicas passaram a ter como principais objectivos a criação de animais para fins de desporto e lazer (Madeira de Carvalho, 2006a).

Em Portugal, os cavalos de toureio continuam a desempenhar um lugar de destaque. O toureio a cavalo tem grande tradição no território nacional e na temporada do ano 2010 contava com 57 cavaleiros de alternativa, 20 praticantes e 12 amadores, o que representa cerca de 90 proprietários de equídeos com aptidão para toureio. As explorações equinas com vocação tauromáquica localizam-se maioritariamente no Ribatejo e Alentejo. Estas, geralmente, além de trabalharem os cavalos de toureio, possuem uma vertente de produção equina.

A temporada tauromáquica em Portugal tem início coincidente com a chegada da Primavera (Março) e termina no princípio do Outono (Outubro). Durante os meses mais quentes o número de corridas de touros atinge a sua maior concentração.

Os cavalos de toureio necessitam de um intenso treino diário, atingindo, depois de trabalhados, grande valor monetário. Assim, a saúde destes autênticos atletas de alta competição, deve ser preservada. Neste campo, as parasitoses gastrointestinais, em particular a *estrongilidose*, são uma ameaça constante e afectam o bem-estar, saúde e desempenho dos cavalos.

Os parasitas gastrointestinais pertencentes à família Strongylidae, vulgarmente designados por *estrongilídeos*, adoptam, actualmente, um lugar de destaque na parasitologia equina pela sua frequência, ubiquidade e patogenicidade. Esta família encontra-se dividida em duas sub-famílias: Strongylinae e Cyathostominae.

A subfamília Strongylinae (grandes *estrongilídeos* ou *estrongilíneos*) inclui o género *Strongylus* cujas espécies são consideradas umas das mais patogénicas que podem parasitar equídeos (Bowman, Lynn, Eberhard & Alcaraz, 2003). Estas espécies fazem migrações complexas no organismo do hospedeiro (artéria mesentérica, fígado, pâncreas) causando alterações graves (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Reinemeyer, 2008). Contudo, as consequências médicas provocadas pela infecção de grandes *estrongilídeos* têm sido mitigadas pelo uso de lactonas macrocíclicas. Consequentemente, problemas clínicos provocados por outros endoparasitas, como os pequenos *estrongilídeos*, tornaram-se mais relevantes (Love, Murphy & Mellor, 1999; Monahan, 2000; Murray, 2003; Larsen, Ritz, Petersen & Nielsen, 2011).



A subfamília Cyathostominae engloba os pequenos estrongilídeos, também designados por ciatostomíneos (Lichtenfels, Gibbons & Krecek, 2002) que são, actualmente, os parasitas mais importantes em equinos (Love *et al.*, 1999), embora os grandes estrongilídeos continuem a ser uma potencial ameaça quando presentes (Larsen *et al.*, 2011). As diferentes espécies de ciatostomíneos que podem afectar os equídeos tornaram-se relevantes, pela sua crescente prevalência e pelo desenvolvimento de resistências a diversos anti-helmínticos (Murray, 2003). Face a este crescente problema, os proprietários dos cavalos e médicos veterinários devem estar cada vez mais atentos à biologia e epidemiologia da infecção por ciatostomíneos, de modo a desenvolverem um correcto e apropriado programa de sanidade animal (Milillo *et al.*, 2009).

### **3. Objectivos do estudo**

- Determinação dos níveis de parasitismo em cavalos de toureio e análise da sua evolução ao longo das diferentes estações do ano e da temporada tauromáquica.
- Determinação dos géneros e espécies de estrongilídeos mais prevalentes e abundantes nestes equinos, através da análise das L3 obtidas nas coproculturas.
- Avaliação da influência das corridas de touros no nível de eliminação de ovos nas fezes.
- Apreciação das medidas de controlo parasitário praticadas nas diferentes explorações através da elaboração de um inquérito.

## 4. Revisão bibliográfica

### 4.1. Sistemática e taxonomia

Os equídeos são hospedeiros de uma enorme variedade de nemátodes, alguns dos quais podem causar importantes lesões com graves consequências para os seus hospedeiros. Os nemátodes que podem parasitar os cavalos pertencem a 7 subordens, 12 famílias, 29 géneros e 83 espécies. A grande maioria (19 géneros e 64 espécies) são membros da família Strongylidae Baird, 1853, a qual engloba o mais comum e o mais patogénico parasita de cavalos (Lichtenfels, Kharchenko & Dvojnjos, 2008).

Os membros da família Strongylidae possuem uma cápsula bucal bem desenvolvida com duas coroas radiadas ou denticulares e os machos uma bolsa copuladora bem desenvolvida com espículas longas e finas (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman, *et al.*, 2003; Lichtenfels *et al.*, 2008). Esta família encontra-se dividida em duas subfamílias: Strongylinae Railliet, 1885 e Cyathostominae Nicoli, 1927. Os representantes da subfamília Strongylinae têm geralmente um tamanho médio a grande e apresentam uma cápsula bucal globular ou em funil, enquanto os membros da Cyathostominae têm usualmente um tamanho pequeno a médio com cápsula bucal cilíndrica (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

A separação destas duas subfamílias é feita com base em características morfológicas, nomeadamente a forma e o tamanho da cápsula bucal. Contudo, é necessário mais investigação na área da filogenia para determinar se estas duas subfamílias constituem 2 grupos naturais ou se pelo contrário alguns géneros da subfamília Strongylinae (*Triodontophorus*, *Oesophagodontus*, *Craterostomum*, *Bidentostomum*), devem ser agrupados com a subfamília Cyathostominae (Lichtenfels *et al.*, 2002; Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### 4.1.2. Subfamília Strongylinae Railliet, 1885

Esta subfamília é constituída por 14 espécies, organizadas em 5 géneros. Seguidamente ir-se-á efectuar uma breve descrição dos géneros e espécies de estrongilíneos que podem infectar animais da espécie *Equus caballus* no nosso país, excluindo, deste modo, o género *Bidentostomum* Tshoiho in Popova, 1958 que só se encontra descrito a sua ocorrência na Ásia (Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **4.1.2.1. Género *Strongylus* Müller, 1780.**

Os parasitas do género *Strongylus* são caracterizados por possuírem um tamanho médio a grande, com uma cápsula bucal subglobular mais comprida do que larga (comprimento maior que 450 µm), com coroa de dentículos, com ou sem dentes no seu fundo e com uma goteira esofágica dorsal bem desenvolvida (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Este género contém 3 espécies importantes.

##### **4.1.2.1.1. *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900) Railliet & Henry, 1909**

É a espécie mais pequena deste género (machos medem 14-16 mm e as fêmeas 20-24 mm) e distingue-se por possuir uma cápsula bucal com um par de dentes arredondados no seu fundo que se estendem aproximadamente até meio da cápsula bucal e por o lobo dorsal da bolsa copuladora ser mais comprido que os lobos laterais (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

##### **4.1.2.1.2. *Strongylus edentatus* (Looss, 1900) Railliet & Henry, 1909**

Os machos medem 22-26 mm e as fêmeas 32-43 mm. Tem como característica distinta das demais espécies do género *Strongylus* o facto de possuir uma cápsula bucal desprovida de dentes (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

##### **4.1.2.1.3. *Strongylus equinus* Müller, 1780**

Os machos desta espécie medem 24-36 mm e as fêmeas 39-46 mm. Tem como característica única a existência no fundo da cápsula bucal de um grande dente dorsal bífido e dois dentes ventrais pontiagudos menores (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **4.1.2.2. Género *Triodontophorus* Looss, 1902.**

As espécies que pertencem ao género *Triodontophorus* são de tamanho pequeno a médio e possuem uma cápsula bucal globular, cujo seu comprimento não ultrapassa os 250 µm, com três pares de dentes dispostos em duas placas na sua base e ainda uma goteira esofágica bem desenvolvida (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Este género compreende 7 espécies das quais 4 têm como hospedeiro o cavalo (*Equus caballus*): *T. serratus* (Looss, 1900) Looss, 1902; *T. brevicauda* Boulenger, 1916; *T. tenuicollis* Boulenger, 1916; *T. nipponicus* Yamaguti, 1943 (Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **4.1.2.3. Género *Craterostomum* Boulanger, 1920.**

Os nemátodes deste género são pequenos e possuem caracteres idênticos ao género anterior, distinguindo-se do mesmo por a coroa externa possuir 6 a 8 elementos (Lichtenfels *et al.*, 2008).

A espécie *C. acuticaudatum* (Kotlán, 1919) Ihle, 1920 é um parasita cosmopolita incluído neste género (Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **4.1.2.4. Género *Oesophagodontus* Railliet & Henry, 1902.**

Os parasitas deste género são grandes, as suas cápsulas bucais têm a forma de funil, a goteira esofágica é imperceptível e os dentes não se estendem à cápsula bucal (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

A única espécie descrita é *O. robustus* (Giles, 1892) Railliet & Henry, 1902 (Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **4.1.3. Subfamília *Cyathostominae* Nicoli, 1927**

Os ciatostomíneos são compostos por 50 espécies válidas organizadas em 14 géneros (Lichtenfels *et al.*, 2008), mas 10 dessas espécies apenas foram descritas em asininos e zebras e algumas raramente foram reportadas (Lichtenfels, Kharchenko, Krecek & Gibbons, 1998; Matthews, Hodgkinson, Dowdall & Proudman, 2004). Apesar da existência destas inúmeras espécies apenas cerca de 10 espécies são abundantes e reportadas regularmente, podendo constituir cerca de 90% do número total de adultos de ciatostomíneos presentes no lúmen intestinal (Ogbourne, 1976; Ogbourne, 1978; Matthews *et al.*, 2004). Contudo, a prevalência das espécies menos comuns pode estar subcalculada devido ao pequeno tamanho das amostras e ao facto das espécies presentes em pequeno número poderem ser facilmente negligenciadas (Ogbourne, 1976; Chapman, Kearney & Klei, 2003; Kuzmina, Tolliver & Lyons, 2011).

Face à difícil identificação destes nemátodes (Lichtenfels *et al.*, 2008) e ao grande número de espécies existentes, não se irá efectuar a descrição de cada uma, referindo-se apenas o nome dos diferentes géneros e as espécies neles incluídas (tabela 1).

**Tabela 1** - Gênero e espécies válidas da subfamília Cyathostominae (baseado em: Ogbourne, 1976; Gawor, 1995; Collobert-Laugier, Hoste, Sevin & Dorchies, 2002; Lichtenfels *et al.*, 2008; Traversa *et al.*, 2010)

<b>Gênero</b>	<b>Espécie(s)</b>
<b>Cyathostomum</b> (Molin, 1861) Hartwich, 1986.	<i>C. tetracanthum</i> (Mehlis, 1831) Molin, 1861, in part Looss, 1900. <i>C. alveatum</i> (Looss, 1900) Cram, 1924 <i>C. catinatum</i> Looss, 1900 <sup>1</sup> <i>C. montgomeryi</i> (Boulenger, 1920) K'ung, 1964 <sup>3</sup> <i>C. pateratum</i> (Yorke and Macfie, 1919) Cram, 1924 <sup>1</sup>
<b>Coronocylus</b> Hartwich, 1986.	<i>C. coronatus</i> (Looss, 1900) Hartwich, 1986 <sup>1</sup> <i>C. labiatus</i> (Looss, 1902) Hartwich, 1986 <i>C. labratus</i> (Looss, 1900) Hartwich, 1986 <i>C. agittatus</i> (Kotlán, 1920) Hartwich, 1986 <i>C. ulambajari</i> Dvojnós <i>et al.</i> , 1994 <sup>3</sup>
<b>Cylicostephanus</b> Ihle, 1922	<i>C. calicatus</i> (Looss, 1900) Cram, 1924 <sup>1</sup> <i>C. asymmetricus</i> (Theiler, 1924) Cram, 1925 <i>C. bidentatus</i> (Ihle, 1925) Lichtenfels, 1975 <i>C. goldi</i> (Boulenger, 1917) Lichtenfels, 1975 <sup>1</sup> <i>C. hybridus</i> (Kotlán, 1920) Cram, 1924 <i>C. longibursatus</i> (Yorke and Macfie, 1918) Cram, 1924 <sup>1</sup> <i>C. minutus</i> (Yorke and Macfie, 1918) Cram, 1924 <sup>1</sup>
<b>Skrjabinodentus</b> Tshoiho in Popova (1958)	<i>S. caragandicus</i> (Funikova, 1939) Tshoiho in Popova (1958) <sup>3</sup> <i>S. longiconus</i> (Scialdo-Krecek, 1983) Lichtenfels and Klei, 1988 <sup>3</sup> <i>S. tshoihoi</i> Dvojnós and Kharchenko, 1986 <sup>3</sup>
<b>Cylicodontophorus</b> Ihle, 1922	<i>C. bicoronatus</i> (Looss, 1900) Cram, 1924 <i>C. reineckeii</i> Scialdo-Krecek and Malan, 1984 <sup>2,3</sup>
<b>Tridentoinfundibulum</b> Tshoiho in Popova (1958)	<i>T. gobi</i> Tshoiho in Popova, 1958
<b>Petrovinema</b> Ershov, 1943	<i>P. skrjabini</i> (Ershov, 1930) Ershov, 1943 <sup>3</sup> <i>P. poculatum</i> (Looss, 1900) Ershov, 1943
<b>Cylicocylus</b> Ihle, 1922	<i>C. radiatus</i> (Looss, 1900) Chaves, 1930 <i>C. adersi</i> (Boulenger, 1920) Chaves, 1930 <sup>2,3</sup> <i>C. ashworthi</i> (Le Roux, 1924) McIntosh, 1933 <i>C. asini</i> Matthee <i>et al.</i> , 2002 <sup>2</sup> <i>C. auriculatus</i> (Looss, 1900) Chaves, 1930 <sup>3</sup> <i>C. brevicapsulatus</i> (Ihle, 1920) Ershov, 1930 <i>C. elongatus</i> (Looss, 1900) Chaves, 1930 <i>C. gyalcephaloides</i> Ortlepp, 1938 <sup>2,3</sup> <i>C. insigne</i> (Boulenger, 1917) Chaves, 1930 <sup>1</sup> <i>C. leptostomum</i> Kotlán, 1920 <sup>1</sup> <i>C. nassatus</i> (Looss, 1900) Chaves, 1930 <sup>1</sup> <i>C. triramosus</i> (Yorke and Macfie, 1920) Chaves, 1930 <sup>2,3</sup> <i>C. ultrajectinus</i> (Ihle, 1920) Ershov, 1939
<b>Poteriostomum</b> Quiel, 1919	<i>P. imparidentatum</i> Quiel, 1919 <i>P. ratzii</i> (Kotlán, 1919) Ihle, 1920
<b>Parapoteriostomum</b> Hartwich, 1986	<i>P. mettami</i> (Leiper, 1913) Hartwich, 1986 <i>P. euproctus</i> (Boulenger, 1917) Hartwich, 1986 <i>P. mongolica</i> (Tshoiho in Popova, 1958) Lichtenfels <i>et al.</i> , 1998 <sup>3</sup> <i>P. schuermanni</i> (Ortlepp, 1962) Hartwich, 1986 <sup>2,3</sup>
<b>Hsiungia</b> K'ung and Yang, 1964	<i>H. pekingensis</i> K'ung and Yang, 1964 <sup>3</sup>
<b>Cylindropharynx</b> Leiper, 1911	<i>C. brevicauda</i> Leiper, 1911 <sup>2,3</sup> <i>C. intermedia</i> Theiler, 1924 <sup>2,3</sup> <i>C. longicauda</i> Leiper, 1911 <sup>2,3</sup>
<b>Caballonema</b> Abuladze, 1937	<i>C. longicapsulatum</i> Abuladze, 1937 <sup>3</sup>
<b>Gyalcephalus</b> Looss, 1900	<i>G. capitatus</i> Looss, 1900

1- Espécies mais prevalentes 2- Não tem como hospedeiro a espécie *Equus caballus* 3- Não descritas na Europa

## 4.2. Epidemiologia da infecção por strongilídeos

Os strongilídeos dos equídeos encontram-se difundidos por todo o mundo, afectando especialmente os que se encontram em pastoreio permanente e os jovens (Lichtenfels *et al.*, 1998; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). De facto, existe uma correlação negativa entre a idade e os ovos eliminados nas fezes, consistente com o desenvolvimento de imunidade (Klei & Chapman, 1999), apresentando os equídeos mais novos níveis de ovos por grama (OPG) mais elevados (Osterman Lind, Höglund, Ljungström, Nilsson & Uggla, 1999; Döpfer, Kerssens, Meijer, Boersema & Eysker, 2004; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009; Becher, Mahling, Nielsen & Pfister, 2010).

Em Portugal, a prevalência de cavalos infectados é igualmente elevada. Estudos recentes realizados na região de Coimbra, Ribatejo e norte Alentejano revelaram prevalências em cavalos estabulados de 80, 74 e 73%, respectivamente. Em relação aos em pastagem, estes números são ainda mais elevados (98.5% no Ribatejo e 88% no norte Alentejano) (Madeira de Carvalho, 2001; Baptista, 2008; Costa, 2011).

Os strongilídeos apresentam uma distribuição binominal negativa, o que significa que a maioria dos cavalos albergam uma baixa carga parasitária, estando a grande parte dos parasitas concentrados numa pequena parte da população (Madeira de Carvalho, 2003a; Nielsen, Haaning & Olsen, 2006a). Além disto, a eliminação de ovos de strongilídeos nas fezes segue um padrão consistente individual, ou seja, um cavalo que elimine muitos ovos num determinado momento, continuará assim durante toda a sua vida, e vice-versa (Nielsen, *et al.*, 2006a; Becher *et al.*, 2010).

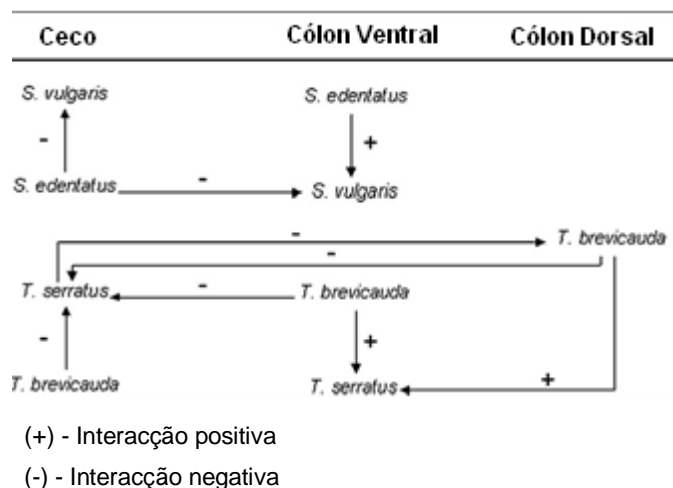
O desenvolvimento de anti-helmínticos levou ao declínio dos grandes strongilídeos, tornando-se os ciatostomíneos, o nemátode mais importante de cavalos. Este crescente relevo deveu-se ao desenvolvimento de resistência aos anti-helmínticos, ao rápido aumento da sua prevalência nas últimas décadas e ao reconhecimento da sua capacidade de causar morbilidade e mortalidade (Mair, 1994). De facto, os ciatostomíneos são muitas vezes os parasitas dominantes nos cavalos, chegando a apresentar prevalências superiores a 95% (Hutchens & DiPietro, 1996; Lyons & Tolliver, 2003) e podendo causar síndromes cuja taxa de mortalidade pode chegar aos 40-70% (Nielsen, Kaplan, Thamsborg, Monrad & Olsen, 2007).

Os cavalos infectados por strongilídeos apresentam as formas adultas no lúmen do intestino grosso, as quais constituem infecções mistas de diferentes espécies no mesmo hospedeiro (Ogbourne, 1978; Love *et al.*, 1999). Estudos indicam que as interacções entre as várias espécies desempenham um papel relevante, podendo modular a abundância e a distribuição dos mesmos (Stancampiano, Mughini Gras & Poglayen, 2010; Mughini Gras, Usai & Stancampiano, 2011) (figura 1).

Os strongilídeos intestinais apresentam localizações preferenciais em relação às diferentes porções do intestino grosso (Madeira de Carvalho, 1991; Gawor, 1995; Collobert-Laugier *et*

*al.*, 2002). Stancampiano *et al.* (2010) determinaram que o local de eleição dos adultos strongilídeos e ciatostomíneos é o cólon ventral (50.5% e 67.34% respectivamente), enquanto as larvas enquistadas encontravam-se em maior quantidade no ceco (16.48 quistos/g).

**Figura 1** - Interações entre grandes strongilídeos em 3 regiões do intestino (adaptado de Stancampiano *et al.*, 2010)



A transmissão da infecção por strongilídeos é efectuada através da pastagem, forragem e água de bebida (Reinemeyer, 2008). As condições presentes nos estábulos não permitem, na sua maior parte, o desenvolvimento larvar necessário para a transmissão. As fezes de equino dessecam rapidamente e quando as cavalariças são limpas e as camas drenadas, não há humidade suficiente para o desenvolvimento dos ovos de strongilídeos até à fase larvar infectante. Por outro lado, as camas mais sujas possuem uma humidade mais adequada, no entanto, também contêm urina. A ureia presente na urina converte-se em amónia que, por sua vez, é extremamente tóxica para as larvas de strongilídeos (Reinemeyer, 2008; Reinemeyer, 2009).

### 4.3. Ciclo-biológico

As espécies da família Strongylidae têm ciclo de vida directo, sem hospedeiro intermediário, com uma fase exógena comum, em que as condições ambientais para o desenvolvimento e sobrevivência das formas larvares livres são idênticas para as duas sub-famílias, e com uma etapa endógena em que as larvas de diferentes espécies realizam migrações larvares mais ou menos complexas no organismo dos hospedeiros (Nielsen *et al.*, 2007; Reinemeyer, 2009).

### 4.3.1. Ciclo de vida no exterior

#### 4.3.1.1. Desenvolvimento dos estádios de vida livre

Após a ovopostura das fêmeas adultas no intestino grosso do hospedeiro, os ovos são eliminados para o exterior juntamente com as fezes. Os ovos de estrongilídeos (figura 2 e 3) encontram-se rodeados de uma cápsula fina com parede lisa e no seu interior está presente uma mórula com blastômeros de tamanho grande (Thienpoint, Rochette & Vanparijs, 1986). Os ovos de ciatostomíneos, que constituem 75 a 100% dos ovos eliminados nas fezes em equinos naturalmente infectados (Bowman *et al.*, 2003; Peregrine, McEwen, Bienzle, Koch & Weese, 2006), são indistinguíveis dos produzidos pelos grandes estrongilídeos (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Monahan, 2000). Contudo, Thienpont *et al.* (1986) relatam caracteres diferenciais para os ovos da subfamília Cyathostominae, do género *Strongylus* e *Triodontophorus*. Os ovos do género *Triodontophorus* (130-140 x 55-65 µm) são de tamanho maior e têm forma de barril, enquanto os ovos dos ciatostomíneos (100-110 x 40-45 µm) possuem paredes laterais mais ou menos aplanadas. Por fim, os ovos do género *Strongylus* distinguem-se dos anteriores por o eixo menor ser maior que a metade do eixo maior (75-93 x 41-54 µm).

**Figura 2** - Ovos do tipo estrongilídeo (original)



Ampliação: aproximadamente 45X

**Figura 3**-Ovos do tipo estrongilídeo (original)



Ampliação: aproximadamente 350X

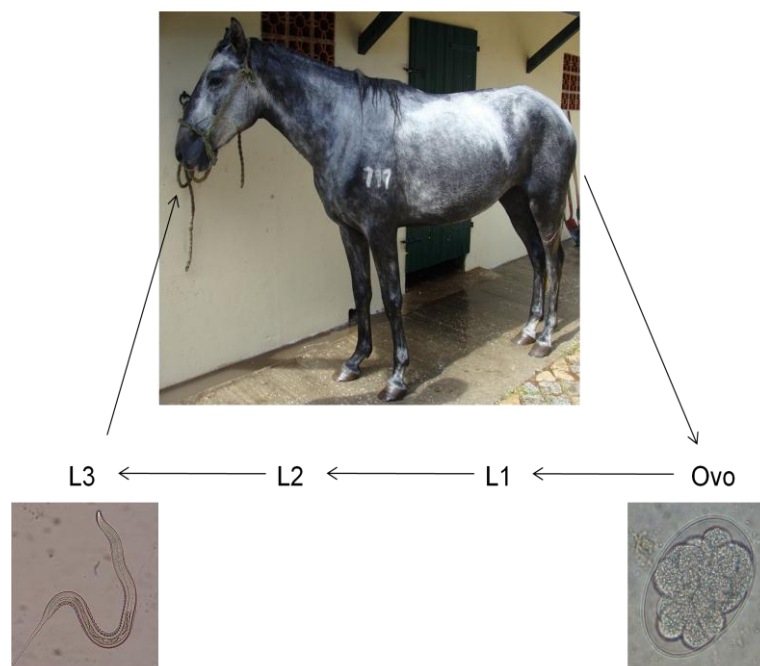
No exterior, após o desenvolvimento embrionário e sob condições ambientais adequadas, nomeadamente de temperatura e humidade, as larvas eclodem a partir dos ovos, libertando larvas do primeiro estágio (L1). Estas larvas após uma fase de crescimento, mudam para larvas do segundo estágio (L2) (figura 4). Estes primeiros dois tipos de larvas pré-infectantes são rãbitiformes, possuindo um esófago com uma parte anterior fusiforme, que se continua posteriormente por um bulbo. Ambas alimentam-se de bactérias e protozoários fecais e substâncias presentes nas fezes (Ogbourne, 1978; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).



Depois de uma segunda muda e ainda dependente dos factores ambientais, as L2 transformam-se na forma infectante para os equídeos, as larvas no terceiro estágio (L3) (figura 5). As L3 conservam a cutícula das L2 que funciona como bainha protectora. Esta providencia uma protecção considerável contra as condições ambientais desfavoráveis como é a dessecação, permitindo a permanência na pastagem por períodos prolongados (Corning, 2009; Monahan, 2000; Nielsen *et al.*, 2007). Por outro lado, a bainha impede as larvas infectantes de se alimentarem, dependendo a sua sobrevivência das reservas armazenadas nas suas células intestinais durante as fases prévias (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Nielsen *et al.*, 2007; Reinemeyer, 2009).

As L3 constituem então as formas infectantes, as quais têm que ser ingeridas pelos equídeos para que o ciclo-biológico prossiga. A transmissão é favorecida pelo aumento da densidade animal nas pastagens. De facto, estudos demonstram que cavalos mantidos em pastagem com uma elevada carga animal irão pastar junto às fezes e defecar na parte da pastagem onde apenas se alimentam (Medica, Hanaway, Ralston & Sukhdeo, 1996). Adicionalmente, o parasita desenvolveu uma estratégia de modo a aumentar a probabilidade de infectar os seus hospedeiros. As L3, quando as condições ambientais são favoráveis, migram para a vegetação circundante a partir das fezes, que actuam como reservatórios (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Madeira de Carvalho, Fazendeiro & Afonso-Roque, 2005; Kuzmina, Kuzmin & Kharchenko, 2006; Nielsen *et al.*, 2007). Todavia, a migração larvar envolve gastos energéticos, já por si limitados devido à impossibilidade de nutrição. Este consumo de energia pode reduzir a capacidade de infecção do cavalo. Como tal, estes parasitas adoptam um plano de “sentar e esperar”, não efectuando grandes migrações, até que os cavalos ao pastar, ingiram as L3 presentes nas proximidades das fezes (Medica *et al.*, 1996).

**Figura 4 -** Desenvolvimento das formas de vida livre de estrongilídeos (original).



#### 4.3.1.2. Ecologia das formas de vida livre

O desenvolvimento dos estádios de vida livre de strongilídeos até à forma infectante e sobrevivência posterior são fortemente influenciados pelo clima, essencialmente pela temperatura e humidade (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Nielsen *et al.*, 2007). Portanto, quando o médico veterinário elabora um programa de controlo parasitário é crucial que tenha conhecimentos de como as condições climáticas influenciam o desenvolvimento e sobrevivência das formas larvares e, consequentemente, as épocas de maior risco de infecção dos cavalos (Nielsen *et al.*, 2007).

O desenvolvimento dos ovos e larvas das diversas espécies da família Strongylidae até à forma infectante realiza-se num intervalo de 10°C a 35°C de temperatura (Mfitlodze & Hutchinson, 1987; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Reinemeyer, 2009), sendo tanto mais rápido quanto mais elevada for a temperatura (Rupashinge & Ogbourne, 1978; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003). À temperatura óptima de desenvolvimento dos ovos e larvas (25-33°C), todas as larvas alcançam a forma infectante em 3-4 dias, com o máximo de rendimento aos 28°C (Reinemeyer, 1986; Mfitlodze & Hutchinson, 1987). À temperatura de 10°C, a eclosão total demora 7 dias, enquanto 80% das larvas transformam-se em L3 em 24 dias (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Ruspashinge & Ogbourne (1978) referem que o limite de temperatura que permite o desenvolvimento pré-parasitário é 8°C e 38°C, sendo que a 40°C os ovos morrem rapidamente. Estes autores referem que à temperatura de 6°C os ovos embrionam mas as larvas não eclodem e a 4°C os ovos não sofrem qualquer desenvolvimento.

Temperaturas baixas prolongadas podem ter efeitos negativos sobre as formas de vida livre dos strongilídeos. Embora os ovos sejam capazes de resistir à congelação durante algum tempo, os não embrionados parecem tolerá-la melhor do que os ovos embrionados (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lucker, 1941, citado por Nielsen *et al.*, 2007). Nielsen *et al.* (2010b) refere que a congelação reduz drasticamente o número de ovos nas primeiras 12 horas após congelação. As larvas pré-infectantes (L1 e L2), por sua vez, são muito susceptíveis a baixas temperaturas, morrendo, a maior parte, quando expostas a temperaturas negativas, enquanto que as L3 são, em geral, mais resistentes ao frio (tabela 2).

Num estudo desenvolvido na Ucrânia (Kuzmina *et al.*, 2006), 42% das larvas que estavam nas massas fecais depositadas em Setembro sobreviveram até à Primavera. Por outro lado, todos os ovos e os estádios larvares iniciais morreram durante o Inverno (massas fecais colocadas em Novembro), quando os termómetros registaram temperaturas inferiores a +3°C. Esta eliminação completa de ovos e das formas larvares iniciais durante o Inverno pode dever-se à alternância de congelação e descongelação das fezes na pastagem (tabela 2). De facto, a congelação e descongelação repetidas, especialmente se a última é de curta

duração, não permite o desenvolvimento, podendo levar à morte de ovos e larvas (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

A humidade e a dessecação também desempenham um papel de extrema importância no desenvolvimento e sobrevivência das formas de vida livre das inúmeras espécies de strongilídeos. Para que o desenvolvimento larvar dos strongilídeos de equino ocorra, o nível mínimo de humidade relativa deve ser superior a 14% (Mfitlodze & Hutchinson, 1987).

A dessecação das fezes é fatal para os ovos, até que terminem o desenvolvimento embrionário prévio à eclosão. Os embriões totalmente desenvolvidos podem permanecer vivos dentro do ovo até que os níveis de humidade sejam favoráveis. As L1 morrem rapidamente em consequência da dessecação das fezes, enquanto as L2 são mais resistentes, podendo sobreviver e retomar o seu desenvolvimento quando as condições de humidade o permitirem (tabela 2). As L3, por estarem protegidas pela cutícula, são todavia as mais resistentes, podendo sobreviver em câmaras secas em laboratório ou na pastagem nos Invernos de regiões de elevada latitude durante vários meses (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Monahan, 2000; Bowman *et al.*, 2003).

Em regiões áridas, ao espalhar as fezes com um tractor, vai provocar uma dessecação rápida dos excrementos reduzindo a população de larvas de strongilídeos (Bowman *et al.*, 2003). Isto suporta a teoria que as bolas fecais intactas possibilitam uma maior sobrevivência das larvas, actuando assim como reservatórios a partir dos quais os pastos são contaminados de forma intermitente. Uma vez na erva da pastagem, encontram-se muito mais susceptíveis às condições climáticas.

**Tabela 2** - Sobrevivência das formas de vida livre de strongilídeos em diferentes condições climáticas (adaptado de Nielsen *et al.*, 2007)

Forma de vida livre	Congelação	Alternância entre congelação e descongelação	Dessecação	Calor (30-38 °C)
Ovo não embrionado	++	++	*	++
Ovo embrionado	+	-	*	++
L1	-	-	-	++
L2	-	-	-	++
L3	+++	+	+++	-

- muito susceptível; + pouco resistente; ++ moderadamente resistente; +++ muito resistente

\* não há dados disponíveis

#### 4.3.1.3. Actividade das larvas infectantes

A actividade das larvas infectantes é importante para a continuidade do ciclo-biológico. As L3 realizam movimentos repetidos dentro das fezes, de modo a alcançar a superfície das mesmas e, assim, poderem migrar para a erva da pastagem, onde a probabilidade de serem inadvertidamente ingeridas por equídeos é maior (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Estudos indicam que as larvas migram das fezes para a erva adjacente a cerca de 10-15cm, estando este intervalo dependente da humidade, nomeadamente da pluviosidade, e da temperatura (Langrova, Jankovska, Borovsky & Fiala, 2003; Madeira de Carvalho *et al.*, 2005).

A actividade das L3 é então condicionada pela humidade, temperatura e luminosidade, apresentando as larvas infectantes um higrotropismo positivo, geotropismo negativo e fototrofismo positivo para a luz de fraca intensidade (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

As L3 necessitam que se forme na vegetação uma fina película de água para que o seu movimento seja possibilitado. Para que isto aconteça são necessários níveis elevados de humidade, muitas vezes proveniente de chuvas ou do orvalho (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). A chuva é considerada um factor importante para a dispersão das L3 na pastagem. Na realidade encontra-se documentado que as larvas infectantes sobrevivem em períodos secos nas bolas fecais, mas apenas migram para a pastagem quando os níveis de humidade e precipitação o permitem (Kuzmina *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2007). Além disso, as L3 sobem na vegetação durante as horas crepusculares, no início e no fim do dia, onde os níveis de humidade são maiores (Madeira de Carvalho, 2003a). Em períodos de seca, as L3 permanecem nas fezes ou deslocam-se em direcção ao solo (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

A luminosidade interfere com os movimentos das L3, favorecendo-os quando é fraca e imobilizando as larvas quando a luz solar é forte (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

A actividade das L3 é proporcional à temperatura do meio que as rodeia. Quando as temperaturas são elevadas, o movimento das L3 é maior e consequentemente o consumo das reservas energéticas é igualmente mais elevado (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Assim, o consumo de energia é mínimo a temperaturas baixas, mas em climas quentes as reservas são rapidamente esgotadas. Como as larvas infectantes encontram-se, como foi referido anteriormente, impossibilitadas de se alimentar, estas reservas são limitadas, o que faz com que a sobrevivência das L3 seja inversamente proporcional as temperaturas ambientais e à sua actividade (Monahan, 2000; Reinemeyer, 2009). A motilidade larvar cessa e as reservas lipídicas das L3 diminuem significativamente após 8 dias a 38°C. Esta depleção de ácidos gordos também reduz a capacidade de infectar o hospedeiro (Medica *et al.*, 1996; Medica & Sukhdeo, 1997).

Assim, as condições que favorecem o desenvolvimento e actividade larvar não beneficiam a sobrevivência e a persistência das L3 no meio ambiente. Quando as condições meteorológicas são quentes e húmidas, o desenvolvimento larvar é rápido e as L3 têm a

oportunidade de migrar dos excrementos até a pastagem, mas a sua vida é curta (Nielsen *et al.*, 2007). Pelo contrário, as formas infectantes e pré-infectantes sobrevivem melhor em temperaturas mais baixas, embora a suas taxas de desenvolvimento sejam mais lentas sob estas condições (Courtney, 1999). Além disso, em climas quentes, quando as condições ambientais são húmidas a sobrevivência larvar é reduzida, enquanto com níveis de humidade baixos a migração e motilidade estão restringidos e as L3 são preservadas (Nielsen *et al.*, 2007).

**Figura 5** - Larva infectante (L3) de *Cyastomum s.l.* (tipo A) (original).



Ampliação: aproximadamente 120X

#### **4.3.1.4. Variação sazonal das formas de vida livre**

A eliminação de ovos de estrongilídeos de equídeos no hemisfério norte segue um padrão sazonal. Nos climas temperados, o número de OPG começa aumentar na Primavera, alcançando máximos entre Julho e Outubro. Com a chegada dos meses mais frios, a quantidade de ovos eliminados diminui até voltar a aumentar novamente em Março (Murray, 2003).

Baudena, Chapman, French e Klei (2000) verificaram que apesar de não haver diferenças significativas entre as estações do ano, o número de OPG foi maior no final do Verão e Outono, havendo um outro pico de menor dimensão na Primavera. A mesma situação da existência de dois picos de OPG foi registada por Slocombe, Valenzuela e Lake (1987) e por Herd, Willardson e Gabel (1985), sendo que um pico foi verificado no final da Primavera/início do Verão e outro no final do Verão /início do Outono.

O nível de contaminação dos pastos por larvas de Strongylidae não é, igualmente, uniforme ao longo do ano. Em países temperados do norte ocorre um rápido desenvolvimento das formas de vida livre durante o fim da Primavera, Verão e início do Outono (Nielsen *et al.*, 2007), constituindo o Verão e o Outono a altura do ano onde as pastagens contêm maior número de L3 (Herd *et al.*, 1985; Ramsey *et al.*, 2004). Em Portugal, Madeira de Carvalho

*et al.* (2005) relatam que a maior população larvar na erva ocorre em Março/ Abril e Novembro a Janeiro. No Inverno, em consequência das baixas temperaturas, este desenvolvimento é lento ou pode mesmo cessar por completo havendo, uma diminuição das L3 durante os meses mais frios (Nielsen *et al.*, 2007). No entanto, as pastagens no Inverno podem constituir uma fonte de infecção para os animais na próxima estação do pastoreio, uma vez que a longevidade larvar é ótima em temperaturas baixas (Reinemeyer, 2009). Em climas quentes, as temperaturas de Inverno são amenas o suficiente para permitir a eclosão dos ovos e o desenvolvimento das larvas e, por outro lado, são frias o bastante para possibilitar a sobrevivência das formas infectantes. Deste modo, as larvas que contaminam pastagens no Outono persistem até à próxima Primavera. No Verão, as temperaturas são geralmente bastante quentes, desfavoráveis simultaneamente ao desenvolvimento e à persistência das formas de vida livre (Reinemeyer, 2009). Em suma, em climas quentes o maior número de L3 na pastagem e consequentemente o pico de transmissão ocorre durante as estações mais frias, enquanto que durante os meses mais quentes essa transmissão é mínima (Courtney, 1999; Baudena *et al.*, 2000).

#### **4.3.2. Ciclo de vida no hospedeiro**

Após uma fase exógena que culmina com formação das formas larvares infectantes, o ciclo de vida dos strongilídeos prossegue com a infecção dos equídeos através da ingestão inadvertida das L3 junto com a erva, a palha, o feno ou a água de bebida (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Reinemeyer, 2008). Após a ingestão, as L3 passam pelo estômago e alcançam o lúmen do intestino delgado, onde perdem a bainha que as envolve desde a segunda muda (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Murray, 2003; Bowman *et al.*, 2003). A saída da larva realiza-se através de uma fissura transversal (*Strongylus vulgaris*, *S. edentatus* e *Trichostrongylus axei*) ou de uma fissura longitudinal (*Cyathostomum* s.l., *Tridontophorus* spp. e *Oesopagodontus robustus*), ambas na zona do esófago, processo que demora cerca de 90 minutos (Madeira de Carvalho, 2003a).

O comportamento larvar posterior ao desembainhamento varia consoante as espécies. As larvas das espécies pertencentes ao género *Strongylus* fazem migrações complexas no organismo do hospedeiro, enquanto o desenvolvimento das larvas da subfamília Cyathostominae é restrito à mucosa e submucosa do intestino grosso (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

#### **4.3.2.1. Subfamília Strongylinae**

##### **4.3.2.1.1. Género *Strongylus***

###### **4.3.2.1.1.1. *Strongylus vulgaris***

As L3 de *S. vulgaris*, depois de abandonarem as suas bainhas, penetram na mucosa e submucosa da parede do íleo, cego e cólon 1-3 dias pós-infecção (p.i.), mudando para larvas do 4º estágio (L4) em cerca de 7 dias. As L4 entram no lúmen das arteríolas da submucosa e deslocam-se ao longo do endotélio, contra a corrente sanguínea, chegando às artérias cecais e cólicas (14 dias p.i.) e à artéria mesentérica cranial e seus ramos (21 dias p.i.) (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Murray, 2003; Bowman *et al.*, 2003).

As larvas permanecem na artéria mesentérica cranial, a sua localização preferencial, durante 2-4 meses, tempo durante o qual crescem e ao fim do qual as larvas realizam uma nova muda para L5. Estas retornam de novo à parede do intestino grosso via lúmen das artérias. As larvas podem ocluir as pequenas artérias, inflamando as suas paredes e até podendo destruí-las. Nódulos são formados à volta das L5, principalmente nas paredes do cego e cólon, sendo posteriormente roturados. Deste modo, os parasitas adultos imaturos são libertados para o lúmen intestinal, onde atingem a maturação sexual durante 6 a 8 semanas (Duncan, 1973; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003;).

O período pré-patente do *S. vulgaris* apresenta uma duração de 6 a 7 meses, sendo suficientemente longo para que este parasita seja vulnerável à maioria dos programas de controlo com anti-helmínticos (Duncan, 1973; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003;).

###### **4.3.2.1.1.2. *Strongylus edentatus***

As larvas infectantes de *S. edentatus*, após o seu desembainhamento, invadem a parede intestinal, principalmente a do cego e cólon ventral, penetram nos vasos sanguíneos e migram para o fígado através da veia porta, alcançando-o antes do fim do segundo dia p.i. (McCraw & Slocombe, 1974; McCraw & Slocombe, 1978). 2-3 semanas depois dá-se a muda das L3 para L4, as quais permanecem e migram activamente pelo parênquima hepático durante cerca 2 meses. As L4 saem do fígado através dos ligamentos hepáticos, em especial o hepato-renal, e dirigem-se, através do peritoneu parietal, para distintas partes do corpo (McCraw & Slocombe, 1974; McCraw & Slocombe, 1978; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003). McCraw & Slocombe (1974, 1978) reportaram a presença de larvas de *S. edentatus* em posição subperitoneal no fígado e nos flancos, ligamentos hepáticos, na gordura peri-renal e em posição subpleural.

A quarta muda ocorre cerca de 4 meses p.i. (McCraw & Slocombe, 1978; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003). As L5 pela via sub-

peritoneal voltam ao intestino grosso, onde se formam nódulos na mucosa. Como o ligamento hepatorenal se estende até à base do cego, uma via directa e curta está disponível para as larvas chegarem a esse órgão (McCraw & Slocombe, 1974). Os nódulos acabam por romper, permitindo que as larvas cheguem ao lúmen do intestino grosso e se transformem em adultos (McCraw & Slocombe, 1978; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003).

Embora durante o seu desenvolvimento as larvas possam migrar para diversas partes do organismo do hospedeiro, apenas as que atingem a base do cego conseguem prosseguir o desenvolvimento até à forma adulta (McCraw & Slocombe, 1978).

O período pré-patente dura aproximadamente 11 meses (McCraw & Slocombe, 1978; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003).

#### **4.3.2.1.1.3. *Strongylus equinus***

As L3 de *S. equinus* invadem e penetram na submucosa do íleo, cego e cólon, formam pequenos nódulos a partir do 4º dia p.i. e sofrem uma nova muda para o quarto estágio larvar (5-7 dias p.i.). Ao 11º dia p.i. as L4 abandonam os nódulos, migram pela cavidade peritoneal e penetram na metade direita do fígado, onde permanecem cerca de 2 meses. Depois de saírem do fígado, dirigem-se para o pâncreas onde completam o seu desenvolvimento até ao 5º estágio em cerca de 4 meses p.i. Finalmente, dirigem-se de novo ao trato gastrintestinal, penetrando na parede intestinal e chegando ao lúmen intestinal através da formação de nódulos (McCraw & Slocombe, 1985; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003).

O período pré-patente tem uma duração aproximadamente de 9 meses (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2003; Murray, 2003).

#### **4.3.2.1.2. Géneros *Triodontophorus*, *Oesophagodontus* e *Craterostomum***

Embora o desenvolvimento parasitário destes estrongilíneos não esteja bem estudado, considera-se que os ciclos endógenos destes 3 géneros sejam similares aos das espécies da subfamília Cyathostominae. As migrações larvares estão limitadas à parede do cego e cólon, de onde, posteriormente, voltam ao lúmen intestinal (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

As larvas de *Triodontophorus* spp. não migram muito para além da membrana mucosa do cólon, sendo os seus efeitos patogénicos substancialmente menos dramáticos que os provocados pelas larvas do género *Strongylus*. Contudo, os adultos de *T. tenuicollis* são frequentemente encontrados em zonas ulceradas do intestino grosso (Bowman *et al.*, 2003).



#### 4.3.2.2. Subfamília Cyathostominae

As larvas infectantes dos ciatostomíneos após perderem a sua bainha no intestino delgado, penetram nas criptas de Lieberkühn no cego e cólon e localizam-se na mucosa ou sub-mucosa intestinal, dependendo da espécie (Reinemeyer, 1986). Algumas espécies (*Cylicocyclus* spp., *Gyalocephalus capitatus*) penetram até ao músculo liso do intestino (Urquhart, 1996; Murray, 2003). As L3 que penetram na parede intestinal, designadas larvas iniciais do terceiro estágio (LI3, do inglês “early L3 larvae”, EL3), são envolvidas por fibroblastos, ficando enquistadas numa cápsula fibrosa (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Murray, 2003). As larvas de ciatostomíneos ao ficarem envolvidas pelos quistos fibrosos provocam uma resposta inflamatória mínima no hospedeiro (Reinemeyer, 2009).

O desenvolvimento subsequente pode prosseguir em dois caminhos. As LI3 podem desenvolver-se directamente em larvas tardias do terceiro estágio (LT3, “late L3”, LL3), em 8-10 semanas (Murray, 2003), as quais se diferenciam das primeiras por apresentar um maior crescimento e um alongamento da faringe (Monahan, 2000; Brianti *et al.*, 2009). Segue-se uma muda para LI4 (larva inicial do 4º estágio, “early L4”, EL4), que continuam o seu desenvolvimento até LT4 (larva tardia do 4º estágio, “late L4”, LL4), as quais emergem dos quistos para o lúmen do cego e cólon. Nesta localização sofrem a última muda para L5, que irá amadurecer e dar origem a adultos férteis que produzem ovos, completando o ciclo de vida (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Monahan, 2000; Murray, 2003).

Alternativamente, as LI3 podem entrar em hipobiose, inibindo o seu desenvolvimento e permanecendo neste estágio vários meses ou anos. As larvas hipobióticas podem constituir mais de metade do total de larvas existentes num animal (Love, Escala, Duncan & Maclean, 1991). Num estudo desenvolvido por Love *et al.* (1991), os estádios larvares presentes na parede intestinal representaram entre 57% a 99.5% do total de parasitas. Num outro estudo (Eysker, Janse & Mirck, 1984), as LI3 constituíram a maioria da população de cistostomíneos, representando mais de 60%.

Esta cessação temporária do desenvolvimento larvar ocorre quando as condições são desfavoráveis à transmissão, assumindo a hipobiose um carácter sazonal. Assim, em climas temperados, as larvas enquistam durante os meses mais frios e emergem em massa na Primavera, quando as temperaturas aumentam. Esta ocorrência leva ao aumento sazonal de eliminação de ovos. Já nos climas tropicais, com Verões quentes e Invernos amenos, a hipobiose é um fenómeno que predomina durante o Verão, ocorrendo a emergência larvar no Outono (Murray, 2003; Corning, 2009;). Após o término da hipobiose, as larvas recomeçam o seu desenvolvimento como foi referido anteriormente.

A ocorrência e duração da hipobiose das larvas de ciatostomíneos aparentam ser controladas pelas condições ambientais, por factores intrínsecos ao hospedeiro e pelo número de adultos no lúmen intestinal (Love & Duncan, 1992; Love *et al.*, 1999; Murray, 2003; Mughini Gras *et al.*, 2011). Em relação a este último factor, os adultos exercem um

*feedback* negativo perante o desenvolvimento das formas larvares enquistadas. Deste modo, a população de pequenos strongilídeos mantém-se estável, evitando uma sobrecarga parasitária (Mughini Gras *et al.*, 2011). A administração de anti-helmínticos activos sob as formas adultas de ciatostomíneos, ao removerem este mecanismo inibitório, podem induzir a emergência em massa das larvas enquistadas, originando uma nova geração de parasitas adultos no intestino (Murray, 2003; Mughini Gras *et al.*, 2011).

Os quistos fibrosos apresentam uma maior concentração no cego, no entanto a maioria dos adultos são assinalados no cólon. Este facto, ao evitar uma sobrecarga parasitária maior no mesmo local e ao provocar, consequentemente, uma acção patogénica menor, pode constituir uma estratégia de sobrevivência do parasita (Stancampiano *et al.*, 2010).

O período pré-patente do ciclo directo sem hipobiose dura cerca de 6-14 semanas (Murray, 2003), embora este período possa ser prolongado até 2 anos devido à capacidade que espécies de ciatostomíneos têm interromper o desenvolvimento (Bowman *et al.*, 2003).

#### **4.4. Efeitos patogénicos da infecção por strongilídeos**

Historicamente, os efeitos dos ciatostomíneos têm sido ofuscados pelas dramáticas lesões patológicas e sinais clínicos atribuídos aos grandes strongilídeos (Reinemeyer, 1986). Como as infecções naturais são normalmente mistas, é difícil separar os efeitos patogénicos e sinais clínicos dos grandes e pequenos strongilídeos. Sabe-se, no entanto, que em ambas subfamílias são os estádios larvares os mais patogénicos (Duncan & Pirie, 1975; Reinemeyer, 1986; Hodgkinson, 2006).

##### **4.4.1. Patogenia**

Os efeitos patogénicos dos strongilídeos são consequência dos efeitos dos adultos no cego e cólon e, principalmente, da migração larvar no organismo do hospedeiro (Duncan & Pirie, 1975; Hodgkinson, 2006).

###### **4.4.1.1. Adultos**

A patogenia das formas adultas está directamente relacionada com os seus hábitos alimentares, histófagos e hematófagos, tendo uma acção mecânica, traumática e, ao mesmo tempo, espoliadora sobre a mucosa do cego e cólon. Desta maneira, os strongilídeos podem ser responsáveis por hemorragias e úlceras no intestino grosso (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Os adultos de *T. tenuicollis* alimentam-se em grupo, causando úlceras profundas no cólon (Urquhart, 1996). As espécies de ciatostomíneos com cápsulas bucais pequenas, apenas atingem o epitélio glandular,

enquanto espécies como *G. capitatus*, com cápsulas bucais maiores, conseguem penetrar mais profundamente na mucosa, provocando apenas leves erosões/ úlceras, embora possam provocar lesões mais graves quando em grande número (Reinemeyer, 1986; Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Lyons, Drudge & Tolliver, 2000).

A ruptura dos nódulos e emergência dos jovens adultos, após o fim do desenvolvimento larval, pode contribuir até certo ponto para a patogenia destas espécies (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

#### **4.4.1.2. Larvas**

##### **4.4.1.2.1. Subfamília Strongylinae**

A acção patogénica das larvas do género *Strongylus* está relacionada com as suas rotas migratórias no hospedeiro e, portanto, varia consoante as espécies (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

As larvas de *S. vulgaris* são consideradas as mais patogénicas (McCraw & Slocombe, 1976; Urquhart, 1996). A gravidade das lesões provocadas pelas larvas desta espécie varia com o número e o período de tempo em que as larvas são ingeridas, o número e o tamanho das artérias afectadas e o estado imunitário do equídeos afectados (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

As lesões mais frequentes ocorrem na artéria mesentérica cranial e nas suas principais ramificações. A migração larvar nestes vasos vai provocar a destruição do endotélio, inflamação, espessamento da parede arterial e formação de trombos (Duncan & Pirie, 1975).

A ocorrência de verdadeiros “aneurismas verminosos” é rara (McCraw & Slocombe, 1976). Na realidade, a ocorrência de proliferação da íntima, formação de trombos e infiltração celular levam a um aumento da espessura da parede arterial (Duncan & Love, 1990).

Como consequência da penetração e migração das larvas na parede intestinal, surge uma marcada reacção inflamatória na submucosa com arterites generalizadas, áreas hemorrágicas e a formação nódulos devido ao regresso das larvas ao intestino (Duncan & Pirie, 1975; Duncan & Love, 1990).

A arterite e as trombo-embolias nas artérias intestinais podem levar a enfartes e consequentemente a isquémia e necrose de áreas intestinais, podendo levar a ocorrência de cólicas nos cavalos infectados (Duncan & Pirie, 1975; McCraw & Slocombe, 1976; Urquhart, 1996; DeLay, Peregrine & Parsons, 2001). Durante muito tempo, os estrongilídeos em geral, e o enfarte intestinal secundário à infecção por *S. vulgaris* em particular, foram considerados os principais responsáveis pelas cólicas nos equídeos (Duncan & Love, 1990). Contudo, como os equinos possuem um elaborado sistema de anastomoses no suprimento arterial ao intestino grosso, os enfartes trombo-embólicos não parecem ser frequentes

(Bowman *et al.*, 2003; Tarazona Vilas *et al.*, 1999;). Assim, as cólicas que os equídeos infectados por *S. vulgaris* podem apresentar, podem dever-se também à diminuição do fluxo sanguíneo nos ramos da artéria mesentérica cranial e do respectivo aporte sanguíneo ao intestino, à diminuição da motilidade íleocecócólica demonstrada em cavalos infectados, à interferência na inervação do intestino por lesões vasculares, à libertação de toxinas pelas larvas e reacções alérgicas ou de hipersensibilidade (Love, 1992; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

As larvas de *S. edentatus* provocam adesões na cavidade abdominal, inflamação do cego, cólon e omento, hemorragias e edema nos flancos (McCraw & Slocombe, 1978; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). No fígado, a migração activa das L4 provoca trajectos irregulares e tortuosos, visíveis à superfície (McCraw & Slocombe, 1974; McCraw & Slocombe, 1978). Contudo, as alterações macroscópicas provocadas pela infecção de larvas de *S. edentatus* (inflamação, alteração da coloração, aspecto rugoso, engrossamento da cápsula), raramente resultam em sintomatologia clínica (Urquhart, 1996; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). A migração larvar de *S. equinus* causa uma inflamação hemorrágica e fibrinosa no fígado, sendo visíveis na sua superfície hemorragias irregulares e tortuosas, e pancreatite com focos hemorrágicos e destruição do tecido pancreático, podendo o animal desenvolver *diabetes mellitus* (McCraw & Slocombe, 1985; Collobert, Gillet, Sorel & Minnebo, 1990; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

#### **4.4.1.2.2. Subfamília Cyathostominae**

Os cavalos aparentemente saudáveis podem estar parasitados com um elevado número de ciatostomíneos adultos sem óbvios efeitos nocivos para a saúde. As infecções por estes parasitas, especialmente os estádios larvares, têm sido cada vez mais reconhecidas como uma importante causa de doença (Mair, 1994).

A infecção por ciatostomíneos causa uma enterite catarral hemorrágica, com aumento da espessura da parede intestinal e edema da mucosa em consequência da penetração larvar na parede intestinal e da posterior emergência das formas imaturas para o lúmen do cego e cólon (Love & Duncan, 1992; Reilly, Cassidy & Taylor, 1993; Murphy & Love, 1997; Love *et al.*, 1999; Uhlinger, 2007).

A penetração das larvas na membrana epitelial das glândulas Lieberkühn e o posterior crescimento das mesmas provoca uma reacção fibroblástica, resultando na formação de quistos fibrosos, na deformação dessas glândulas e numa hipertrofia e hiperplasia das células globosas (Reinemeyer, 1986; Reilly *et al.*, 1993; Love *et al.*, 1999).

O fenómeno de hipobiose desempenha um papel importante na patogenia da doença. Por um lado, a presença de um grande número de larvas enquistadas danifica a mucosa do intestino grosso, interferindo com a absorção e secreção das regiões afectadas e

aumentando a permeabilidade intestinal (Ogbourne, 1978; Reilly *et al.*, 1993). Por outro lado, a emergência simultânea de um grande número de larvas enquistadas na parede intestinal provoca uma intensa resposta inflamatória essencialmente eosinofílica (Ogbourne, 1978; Reinemeyer, 1986; Reilly *et al.*, 1993; Mair, 1994), podendo resultar numa enteropatia com perda de proteínas e com alteração da motilidade intestinal (Love *et al.*, 1999).

Esta emergência em massa pode ser secundária à administração de anti-helmínticos que sejam activos sobre as formas adultas de ciatostomíneos (Murray, 2003; Mughini Gras *et al.*, 2011). Assim, o tratamento a animais sem sinais clínicos e sem suporte laboratorial deve ser desencorajado, uma vez que a emergência das larvas enquistadas tem consequências patológicas importantes (Love *et al.*, 1999).

A hipoalbuminémia, a perda de peso e o aumento da permeabilidade intestinal que os cavalos infectados podem apresentar, constituem uma forte evidência que esta patologia pode constituir uma enteropatia com perda de proteínas (Love, Escala, Duncan & MacLean, 1991; Reilly *et al.*, 1993; Mair, 1994; Murphy & Love, 1997).

A libertação de uma quantidade apreciável de mediadores químicos e antigénios na mucosa, como consequência da lesão do intestino e da emergência larvar, podem induzir vasoconstrição e isquémia e estar associada à cólica e ao enfarte intestinal não estrangulante (Mair & Pearson, 1995).

#### **4.4.2. Sinais clínicos e laboratoriais**

##### **4.4.2.1. Subfamília Strongylinae**

Anemia, emaciação e pêlo em mau estado, são frequentemente sinais atribuídos ao parasitismo por formas adultas de estrongilídeos no intestino grosso (McCraw & Slocombe, 1976; Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

Anorexia, pirexia, perda de peso, depressão, cólica e diarreia são sinais inespecíficos, associados à infecção por estrongilíneos (Duncan, 1973; Duncan & Pirie, 1975; McCraw & Slocombe, 1976; McCraw & Slocombe, 1985; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Hubert, *et al.*, 2004). A gravidade destes sinais está relacionada com número de larvas ingeridas, com a idade e imunidade do hospedeiro, podendo os equídeos infectados apresentar sinais variados que vão desde a ausência de sintomatologia até à morte (McCraw & Slocombe, 1976; Patton & Drudge, 1977; Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Animais infectados com *S. edentatus* poderão demonstrar dor à palpação principalmente do flanco direito, enquanto a cólica é a manifestação clínica mais frequente e importante em infecções por *S. vulgaris* (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

Em relação aos sinais hematológicos, os equídeos infectados por grandes estrongilídeos podem apresentar um aumento do número de leucócitos, eosinófilos e globulinas totais e

anemia (Duncan, 1973; Duncan & Pirie, 1975; McCraw & Slocombe, 1976; Patton & Drudge, 1977; McCraw & Slocombe, 1985; Hubert *et al.*, 2004).

#### **4.4.2.2. Subfamília Cyathostominae**

Os sinais clínicos de ciatostominose são variados e normalmente têm início no Inverno/Primavera. Razões possíveis para esta variabilidade de sinais clínicos incluem a quantidade de larvas presentes no hospedeiro, as espécies de ciatostomíneos envolvidos e diferenças individuais na resposta à infecção (Mair, 1994; Bodecek, Jahn, Dobesova & Vavrouchova, 2010).

A perda de peso/ redução de ganho de peso é o efeito clínico primário e a diarreia é o mais reportado (Love *et al.*, 1999). A diarreia por ciatostomíneos apresenta um início súbito e agudo podendo tornar-se crónico (Ogbourne, 1978; Bodecek *et al.*, 2010). Num estudo desenvolvido por Love, Mair e Hillyer (1992), concluiu-se que o diagnóstico mais comum em casos de diarreia crónica é o de ciatostominose larvar. Sinais adicionais incluem anorexia, apatia, edema subcutâneo, pirexia e cólica (Love *et al.*, 1991; Love, *et al.*, 1992; Reilly *et al.*, 1993; Mair, 1994; Murphy & Love, 1997; Bodecek *et al.*, 2010). Ciatostomíneos têm sido associados com formas específicas de cólicas de equídeos, como o enfarte intestinal não estrangulante e a invaginação ceco-cólica (Mair & Pearson, 1995; Bodecek *et al.*, 2010).

Apesar de não haver sinais bioquímicos e hematológicos patognomónicos de infecção por ciatostomíneos, muitos animais desenvolvem neutrofilia e hipoalbuminémia. Outras alterações nos parâmetros laboratoriais como hiperglobulinémia, anemia, eosinofilia, diminuição da concentração de frutossaminas e aumento sérico da fosfatase alcalina podem ser detectadas (Love *et al.*, 1991; Love, *et al.*, 1992; Mair, 1994; Murphy & Love, 1997; Murphy, Reid, Graham & Love, 1997; Bodecek *et al.*, 2010).

A ciatostominose pode-se apresentar em dois quadros clínicos distintos. O tipo 2 (ou clássica ciatostomose larvar) tem um carácter agudo, com diarreias copiosas secundárias à emergência em massa das larvas enquistadas, podendo causar a morte. Este tipo de ciatostominose ocorre no final do Inverno e início da Primavera e está associado a tratamentos recentes com anti-helmínticos. O tipo 1 (ou ciatostomose de Verão) evolui progressivamente à medida que os animais continuam na pastagem infectada na Primavera/Verão e é secundária à penetração das L3 na mucosa e acumulação progressiva de larvas enquistadas, levando a um aumento da espessura da mucosa e, consequentemente, a uma má absorção de nutrientes. Os animais afectados por esta forma de ciatostominose podem apresentar uma elevada morbilidade com perda de peso que pode assumir um carácter crónico durante o Outono/ Inverno. Ambos os tipos de ciatostominose larvar afectam maioritariamente animais jovens (com menos de 6 anos e sem resistência imunitária estabelecida) (Monahan, 2000).

## **4.5. Diagnóstico da estrogilidose**

O acesso a uma história completa do animal é uma ferramenta útil para o diagnóstico de estrogilidose clínica. Sinais clínicos e laboratoriais, anteriormente referidos, associados a uma desparasitação pouco frequente, pode levar o médico veterinário a suspeitar de doença parasitária gastrointestinal. Contudo, os sinais que podem resultar da infecção por estrogilídeos são inespecíficos e, muitas vezes, o quadro clínico ocorre mesmo com tratamento frequente com anti-helmínticos (Reinemeyer, 1986).

Face a esta realidade, o diagnóstico coprológico assume um papel preponderante. As técnicas coprológicas são simples, fáceis de executar, relativamente baratas e, em regra geral, quando os animais se encontram parasitados são sempre positivas (Madeira de Carvalho, 2006b). Além disto, estas técnicas também se destacam pela sua importância na vigilância parasitária e na detecção de resistências a anti-helmínticos (Nielsen, Baptiste, Tolliver, Collins & Lyons, 2010a). É, assim, imperativo que haja uma crescente valorização, tanto pelos médicos veterinários como pelos proprietários dos animais, deste conjunto de técnicas enquanto meio de vigilância, diagnóstico e controlo de infecções parasitárias gastrointestinais.

### **4.5.1. Técnicas coprológicas**

#### **3.5.1.1. Técnicas qualitativas**

O diagnóstico coprológico deve começar pelo exame macroscópico das fezes, observando se existe alterações de consistência e aspecto das fezes (diarreicas, sanguinolentas) e se estão presente formas parasitárias, nomeadamente formas adultas e/ou larvares de estrogilídeos, com colorações entre branco rosado a vermelho-rubi, respectivamente (Madeira de Carvalho, 2006b).

O exame microscópico pode ser qualitativo ou quantitativo. As técnicas qualitativas podem ser: esfregaço fecal (método rápido mas com muitos resultados falsos negativos), método de flutuação (especialmente importantes na pesquisa de ovos de nemátodes e alguns cestódes) e método de sedimentação (importante na pesquisa de ovos de céstodes e tremátodes) (Madeira de Carvalho, 2000; Bowman *et al.*, 2003; Madeira de Carvalho, 2006b).

#### **4.5.1.2. Técnicas quantitativas**

O método de MacMaster é um método quantitativo importante no diagnóstico de estrogilidose, cujo limiar de detecção pode variar consoante a diluição utilizada. Embora os métodos quantitativos sejam um relevante meio de diagnóstico, a sua aplicação não se cinge unicamente a este ponto. Estas técnicas têm várias aplicações, podendo ser usadas no decurso de um inquérito epidemiológico, para apreciar o nível de infecção (tabela 3), ou

avaliar o grau de contaminação do ambiente, em particular da pastagem (Madeira de Carvalho, 2006b). A extrapolação do grau de parasitismo gastrointestinal baseado no número de OPG é alvo de discussão. Nielsen *et al.* (2010a) refere que não existe uma correlação linear entre o número de ovos eliminados nas fezes e o número de formas adultas de *strongilídeos*. No mesmo estudo, contagens abaixo de 500 OPG corresponderam a cargas parasitárias significativamente mais baixas.

**Tabela 3** - Níveis de infecção e número de OPG (baseado em Madeira de Carvalho, 2001)

	Infecção fraca	Infecção moderada	Infecção maciça
Número de OPG	0-450	500-1000	>1000

O crescente aumento dos níveis de resistência dos nemátodes de equídeos aos anti-helmínticos, enfatiza a importância da vigilância parasitária e do diagnóstico na elaboração de protocolos de tratamento (Nielsen *et al.*, 2010a; Nielsen *et al.*, 2010b). Neste capítulo, os métodos de diagnóstico quantitativo, ao avaliar a redução de ovos fecais e a eficácia da desparasitação, ao determinar o período de reaparecimento de ovos e ao permitir o tratamento selectivo apenas a animais a partir de um determinado nível de OPG (Madeira de Carvalho, 2006b), contribuem para um adequado controlo, devendo ser implementadas nas explorações equinas.

No entanto, estas técnicas têm algumas limitações. A consistência das fezes, a distribuição não homogénea dos ovos, a percentagem de parasitas sexualmente maduros, o desenvolvimento de imunidade e as variações sazonais nessa eliminação, podem levar a erros na interpretação dos resultados (Madeira de Carvalho, 2000). A interpretação de resultados negativos poderá ser igualmente difícil e delicada, recomendando-se repetir a técnica quando isso ocorra (Nielsen *et al.*, 2010a). A ocorrência de falsos negativos é comum e uma contagem de 0 OPG raramente significa que os cavalos não se encontram parasitados. Além disso, as larvas do género *Strongylus* em migração e de ciatostomíneos em hipobiose contribuem para a ocorrência de resultados falsos negativos (Madeira de Carvalho, 2006b; Nielsen *et al.*, 2010a).

#### 4.5.1.3. Coproculturas

A realização de coproculturas possibilita, através da observação das formas infectantes, distinguir o género e/ou espécie dos nemátodes da família Strongylidae. A identificação de larvas de *strongilídeos* é realizada através da observação do número e forma das células intestinais, comprimento total da larva, incluindo a bainha, presença ou ausência de bainha



perilarvar e aspecto da cauda da bainha (Madeira de Carvalho, 2000; Madeira de Carvalho, 2006b)

Esta técnica permite então determinar quais géneros e/ou espécies em maior proporção em infecções mistas e quais os strongilídeos que sobrevivem a uma administração de anti-helmínticos (Madeira de Carvalho, 2000; Madeira de Carvalho, 2006b).

#### **4.6. Controlo da strongilidose em equídeos**

O objectivo de um bom programa de controlo não é remover a totalidade dos strongilídeos, o que nem sempre é possível nem desejável (Reinemeyer, 2008). De facto, o importante é manter um nível mínimo de infecção, de modo a que o sistema imunitário seja estimulado e a que a probabilidade de ocorrência de ciatostominose clínica diminua (Lyons *et al.*, 2000). Assim, as medidas de controlo devem ter como propósito a prevenção e diminuição da contaminação ambiental com as formas infectantes (Reinemeyer, 2008). Deste modo, a transmissão dos parasitas e a infecção dos hospedeiros ocorre em menor grau, ocorrendo uma melhoria da saúde e bem-estar dos equídeos.

No entanto, o controlo parasitário, durante os últimos 40 anos, tem sido efectuado quase exclusivamente com base na administração de fármacos anti-helmínticos (Reinemeyer, 2008). O uso intensivo destes produtos promoveu um declínio dos parasitas do género *Strongylus* mas, por outro lado, levou ao aumento da prevalência dos da subfamília Cyatostominae e ao desenvolvimento de resistências aos anti-helmínticos (Nielsen & Kaplan, 2008).

A emergência de parasitas resistentes a anti-helmínticos, colocou em causa as tradicionais recomendações para o seu controlo. Actualmente, são incompatíveis com a realidade da parasitologia equina, práticas comuns como, tratar todos os animais da mesma forma (sem conhecimento de cargas e espécies presentes), utilizar drogas sem conhecimento da sua eficácia, não determinar a eficácia do tratamento e não efectuar vigilância sanitária (Nielsen & Kaplan, 2008). É, assim, urgente um maior envolvimento do médico veterinário no controlo parasitário e a implementação de medidas de controlo integrado, em que os anti-helmínticos sejam utilizados de uma forma racional e associados a medidas de manejo adequadas à redução da contaminação do ambiente.

#### 4.6.1. Anti-helmínticos

Os anti-helmínticos utilizados em equídeos tem variado ao longo dos anos (Lyons, Tolliver & Drudge, 1999), sendo que muitos foram retirados do mercado. Actualmente, as classes de anti-parasitários resumem-se a benzimidazóis, tetrahidropirimidinas, lactonas macrocíclicas, pró-benzimidazóis e heterocíclicos (tabela 4), sendo que as três primeiras são as principais classes utilizadas em medicina equina em todo mundo, incluindo em Portugal (Madeira de Carvalho, 2006b; Nielsen & Kaplan, 2008; Corning, 2009).

**Tabela 4** - Anti-helmínticos para equinos utilizados no controlo de estrongilídeos (baseado em Love, 2003; Madeira de Carvalho, 2003b; Reinemeyer, 2008)

Classe	Anti-helmínticos	Dose	Modo de acção	Actividade nos estrongilídeos
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina <sup>1</sup>	0.2mg/Kg	Canais de glutamato e cloro, receptores do GABA	Larvicida para larvas de grandes estrongilídeos em migração; eficaz contra ciatostomíneos
	Moxidectina <sup>1</sup>	0.4mg/Kg		Larvicida para larvas de grandes estrongilídeos em migração e de ciatostomíneos em hipobiose; eficaz contra os ciatostomíneos
Benzimidazóis	Febendazol <sup>1</sup>	7.5 mg/Kg <sup>3</sup>	Inibição da fumarase redutase, transporte de glucose e síntese de ATP; bloqueia a síntese de tubulina	População de ciatostomíneos apresenta resistências
	Febendazol	10 mg/Kg q24h durante 5 dias <sup>5</sup>		Larvicida para larvas de grandes estrongilídeos em migração e de ciatostomíneos em hipobiose
	Oxibendazol	10 mg/Kg		Algumas populações de ciatostomíneos são resistentes
Tetrahidro pirimidinas	Pamoato de pirantel <sup>1</sup>	19 mg/Kg <sup>4</sup>	Efeito colinérgico nos gânglios nervosos	Apenas é eficaz contra formas adultas; algumas populações de ciatostomíneos são resistentes
	Tartarato de pirantel <sup>2</sup>	2.64 mg/Kg q 24h		Administrado diariamente na comida para prevenção de infecção por estrongilídeos; algumas populações de ciatostomíneos são resistentes
Heterocíclicos	Piperazina	44 mg/Kg	Hiperpolariz ação neuromuscul ar	Raramente usado actualmente; não tem eficácia contra grandes estrongilídeos
Pró-benzimidazóis	Febantel <sup>1</sup>	6 mg/ Kg	Igual aos benzimidazóis	algumas populações de ciatostomíneos são resistentes

1- Utilizados em Portugal

2- Utilizado nos EUA para profilaxia diária

3- dose recomendada na Europa é 7.5 mg/Kg, dose recomendada nos EUA é 5 mg/Kg.

4- dose recomendada na Europa é 19 mg/Kg, dose recomendada nos EUA é 6.6 mg/Kg

5- dose utilizada na Europa é 7.5 mg/Kg durante 5 dias consecutivos, dose utilizada nos EUA é 10 mg/Kg durante os mesmos 5 dia

As três principais classes de anti-helmínticos (lactonas macrocíclicas, benzimidazóis e pirantel) possuem uma eficácia excelente contra as formas luminais de grandes estrongilídeos (Murray, 2003). No entanto, apenas as lactonas macrocíclicas e febendazol 10 mg/Kg durante 5 dias consecutivos são eficazes contra as larvas em migração. Como o período pré-patente mais curto do género *Strongylus* é de 6 meses, tratamentos larvicidas em intervalos não superior a 6 meses eliminará a fonte de infecção (Reinemeyer, 2008).

O controlo dos ciatostomíneos tem-se tornando cada vez mais difícil. Além do desenvolvimento de resistências, apenas a moxidectina 0.4 mg/Kg e febendazol 7.5 a 10 mg/Kg durante 5 dias têm actividade contra as larvas hipobióticas (Duncan, Bairden & Abbott, 1998; Murray, 2003).

#### **4.6.2. Desenvolvimento de resistências aos anti-helmínticos**

O desenvolvimento de resistência é o principal responsável pelo fracasso nos programas de controlo (Varady, Konigova & Corba, 2004). Os primeiros casos de resistência ocorreram com utilização da fenotiazina, sucedendo-se os benzimidazóis, a piperazina e recentemente o pirantel (Nielsen *et al.*, 2010a).

Apesar dos grandes estrongilídeos não terem demonstrado até ao momento resistências às três principais classes de anti-helmínticos, os ciatostomíneos têm exibido vários graus de resistência a todas as classes de anti-helmínticos com a excepção das lactonas macrocíclicas (Lyons *et al.*, 2000).

O período pré-patente relativamente curto e a grande quantidade de larvas enquistadas na parede intestinal fazem com que ciatostomíneos estejam particularmente adaptados ao desenvolvimento de resistências (Murray, 2003). No presente, estes parasitas apresentam uma generalizada e prevalente resistência aos benzimidazóis, e ao pirantel, que apesar de menos comum é cada vez mais prevalente e generalizada (Chapman, French, Monahan & Klei, 1996; Hutchens & DiPietro, 1996; Lyons *et al.*, 1996; Lyons, Tolliver, Drudge, Collins & Swerczek, 2001; Lyons, Tolliver, Ionita & Collins, 2008; Nielsen & Kaplan, 2008; Nielsen, 2009). Recentemente, têm sido identificadas resistências ao tratamento com febendazol na dose recomendada para a remoção das formas larvares na mucosa (10 mg/Kg q24h durante 5 dias) (Lyons & Tolliver, 2003; Rossano, Smith & Lyons, 2010).

Quando uma população de ciatostomíneos desenvolve resistência a uma droga pertencente à classe dos benzimidazóis, essa mesma população será resistente para todas as moléculas dessa classe, com possível excepção do oxibendazol (Herd, 1995; Lyons *et al.*, 1996). Assim, o nível de eficácia de um determinado benzimidazol, administrado pela primeira vez num animal com uma população parasitária já resistente a esta classe, poderá ser baixo.

Resistência às lactonas macrocíclicas, usadas há mais de 25 anos, parece ser inevitável (Nielsen & Kaplan, 2008). De facto, recentemente vários estudos indicam que a ivermectina (Lyons, Tolliver & Collins, 2009; Lyons *et al.*, 2011a; Lyons, Tolliver & Collins, 2011b) e moxidectina (Lyons, Tolliver, Kuzmina & Collins, 2010; Rossano *et al.*, 2010; Lyons *et al.*, 2011a; Lyons *et al.*, 2011b), apresentam uma redução do período de reaparecimento de ovos (PRO) em relação à altura em que estas moléculas foram postas no mercado. Esta redução da actividade destes dois anti-parasitários é deveras preocupante pois não existe perspectivas que novas classes de anti-helmínticos sejam desenvolvidas e comercializadas nos próximos anos (Nielsen & Kaplan, 2008). Por outro lado, com a redução de actividade da moxidectina e a falta de eficácia do febendazol em doses larvicidas, a dúvida começa a instalar-se se alguma droga reduz ou elimina as larvas hipobióticas, o que levará, inevitavelmente a um aumento da incidência de ciatostominose larvar nos cavalos (Rossano *et al.*, 2010).

#### **4.6.3. Recomendações para um controlo adequado da estrongilidose equina**

Com o aumento de casos de resistência aos anti-helmínticos por parte dos ciatostomíneos e sem perspectivas de novas classes disponíveis nos próximos anos (Nielsen & Kaplan, 2008), é necessária uma abordagem integrada ao controlo da estrongilidose, baseada numa utilização racional de anti-helmínticos associada a métodos que promovam a redução da contaminação do ambiente e limitem a transmissão. Deste modo, é imperativo conhecer a epidemiologia e biologia destes nemátodes para que sejam implementadas estratégias que visam um adequado controlo do mesmos e, ao mesmo tempo, promovam a desaceleração do desenvolvimento de resistências e prolonguem a eficácia dos anti-helmínticos actualmente disponíveis.

**A) Utilizar anti-helmínticos eficazes** – ao utilizar determinado anti-parasitário deve-se ter conhecimento, através de técnicas coprológicas, quais os parasitas que o animal alberga e a eficácia dos diferentes anti-helmínticos (tabela 5) (Murray, 2003). Além disso, aconselha-se recorrer à contagem de ovos nas fezes antes e 14-21 dias depois do tratamento para testar o desenvolvimento de resistências. Se a redução for menor que 90% considera-se que a molécula utilizada não é eficaz, sendo, portanto, recomendado a sua descontinuação (Herd, 1995; Peregrine, McEwen, Bienzle, Koch & Weese, 2006).

**Tabela 5** - Eficácia dos anti-helmínticos utilizados no controlo de estrongilídeos (adaptado de Love, 2003).

Anti-helmíntico	Eficácia do anti-helmíntico			
	Adultos de estrongilídeos	Larvas em migração de estrongilíneos	Adultos ciatosmíneos	Larvas hpobiose de ciatostomíneos
Ivermectina	90%	90%	90%	-
Moxidectina	90%	90%	90%	30-40%
Febendazol	90%	90% <sup>1</sup>	90% <sup>2</sup>	90% <sup>1</sup>
Oxibendazol	90%	—	90% <sup>2</sup>	—
Pamoato de pirantel	90%	—	90% <sup>2</sup>	—
Piperazina	50%	—	90%	—

1 – Febendazol na dose de 10 mg/Kg durante 5 dias

2 – Desenvolvimento de resistências pode afectar eficácia

**B) Administrar uma dose correcta** – uma subdosagem, que muitas vezes acontece devido a uma incorrecta estimativa do peso do animal, pode promover a selecção de parasitas resistentes (Herd, 1995; Peregrine *et al.*, 2006).

**C) Tratamentos estratégicos** – nas épocas de maior eliminação de ovos e maior abundância de larvas na pastagem (na Primavera e Outono nas regiões temperadas) e aos novos animais que chegam à quinta, com produtos larvicidas. A esta estratégia de controlo devem ser acopladas técnicas coprológicas. Tratamentos larvicidas devem ser administrados a todos os animais quando a carga larvar é alta e a transmissão é baixa (Outono e Inverno), sendo posteriormente tratados os cavalos com grande número de OPG na época onde a transmissão seja elevada (Primavera e Verão) (Herd, 1995; Uhlinger, 2007).

**D) Tratamento selectivo** – o tratamento apenas dos animais que apresentam sinais clínicos e dos que eliminam um número alto de OPG nas fezes tem sido alvo de um crescente interesse. Esta estratégia, tal como a anterior, permitiria uma redução do número de tratamentos e da contaminação do ambiente, reduzindo o risco de uso intensivo dos anti-helmínticos e a indução de resistências (Becher *et al.*, 2010).

Como a maioria dos parasitas se encontra concentrada numa pequena parte da população de hospedeiros, deveria implementar-se, em todas as coudelarias, um tratamento selectivo, de modo a reduzir o número de tratamentos com anti-helmínticos e a pressão selectiva para a resistência a anti-helmínticos. Além disto, a eliminação de ovos de estrongilídeos a nível individual segue um padrão consistente individual, ou seja, cavalos com alto (ou baixo) OPG num determinado momento é provável que tenham alto (ou baixo) OPG numa contagem posterior. Assim através de contagens de ovos nas fezes, antes de se iniciar um tratamento selectivo, pode-se prever o nível de OPG e número de tratamentos necessários de cada indivíduo (Nielsen *et al.*, 2006a; Becher *et al.*, 2010).

A escolha do nível de OPG a partir do qual se deve proceder à desparasitação, tem sido alvo de discussão e até ao momento não existe consenso. O tratamento tipicamente ocorre num intervalo de 20 a 500 OPG, sendo que 200 OPG normalmente é o mais utilizado (Nielsen *et al.*, 2006a; Nielsen, 2009). No entanto, alguns autores sugerem que um limiar de 500 OPG deve ser o utilizado (Madeira de Carvalho, 2006a; Nielsen *et al.*, 2010a).

**E) Rotação de classes de anti-helmínticos** – evita a selecção de múltiplas espécies resistentes, reduzindo ou evitando o desenvolvimento de resistência a anti-helmínticos (Herd, 1995; Brady, Nichols, Blane & Hutcheson 2008). Esta rotação deverá ser lenta e anual, de modo que a mesma geração de parasitas não contacte com diferentes fármacos e acelere o desenvolvimento de resistências (Herd, 1995; Peregrine *et al.*, 2006).

**F) Manutenção do fenómeno de refúgio** – é, actualmente, considerado um dos factores que influenciam o desenvolvimento de resistências mais importantes. Os parasitas em refúgio correspondem à proporção da população parasitária não exposta ao anti-parasitário, sendo constituída por formas de vida livre na pastagem, parasitas presentes em animais não tratados e formas larvares que não entram em contacto com os fármacos, como é o caso das larvas em hipobiose dos ciatostomíneos (Madeira de Carvalho, 2006b; Soulsby, 2007). A população em refúgio ao providenciar genes susceptíveis aos anti-helmínticos, diluem a frequência de genes resistentes, e diminuem a evolução de resistências (Soulsby, 2007; Nielsen & Kaplan, 2008). Assim, a terapia selectiva em que os tratamentos sejam evitados em alturas que o refúgio é menor (no Inverno em climas frios e Verão em climas quentes) é necessária.

**G) Monitorizar o programa de controlo** – fornece informações cruciais tais como: a eficácia dos anti-helmínticos, através da avaliação do número de OPG na altura do tratamento e 14-21 dias depois e da determinação da percentagem de redução da contagem de ovos fecais; o período de reaparecimento de ovos nas fezes (período em que são efectuadas contagens de ovos até reaparecerem ovos em número significativo), que ditará a altura do próximo tratamento; o nível de contaminação do ambiente (Herd, 1995; Monahan, 2000; Love, 2003). As técnicas coprológicas permitem assim avaliar o programa de controlo parasitário e rectificá-lo prontamente caso seja necessário.

**Tabela 6** - Duração do período de reaparecimento de ovos (PRO) após tratamento com diferentes anti-helmínticos (baseado em Love, 2003, e Reinemeyer, 2008)

Anti-helmíntico	PRO <sup>1. 2</sup>
Ivermectina	6-8 semanas
Moxidectina	12 semanas
Febendazol	4-6 semanas
Oxibendazol	4-6 semanas
Pamoato de pirantel	4 semanas

1 – Assumindo que população de ciatostomíneos é susceptível ao respectivo anti-helmíntico

2 – Nos cavalos jovens PRO é 25-40% mais curto

**H) Utilização de métodos alternativos/ complementares para reduzir a contaminação ambiental** – rotação de pastagens, pastagens mistas com ruminantes, arar a terra, remoção das fezes, tratamento com ivermectina ou moxidectina antes do movimento dos animais para outra pastagem podem contribuir para a redução da contaminação das pastagens (Lyons *et al.*, 1999). Recentemente, estudos demonstram que o controlo biológico da estrongilidose equina através da administração de fungos nematófagos, nomeadamente *Duddingtonia flagrans*, constitui uma medida eficaz para a redução da contaminação ambiental, podendo ser uma alternativa/ complemento à administração de anti-helmínticos aos cavalos em pastagem (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007a; Braga, 2009; Sánchez-Andrade *et al.*, 2009; Tavela Ade, 2011; Braga *et al.*, 2010a).

Em suma, um controlo dos estrongilídeos coroado de êxito só é possível utilizando uma terapia selectiva, onde contagem de ovos fecais (COF) seja realizada rotineiramente, de maneira que se mantenha uma adequada proporção de parasitas em refúgio (Nielsen & Kaplan, 2008).

## 5. Material e métodos

### 5.1. Delineamento do estudo

O estudo decorreu num período de 11 meses, tendo início em Julho de 2010 e término em Maio de 2011. Foram realizadas análises coprológicas na Primavera, Verão, Outono e Inverno, correspondendo a quatro épocas da temporada tauromáquica em Portugal (início, meio e fim da temporada e ausência de corridas, respectivamente).

Sempre que possível, além de uma primeira análise realizada um a dois dias antes do dia de uma corrida, foi realizada uma outra, dois a três dias depois. Assim, por cada cavalo foram recolhidas um total de 5 amostras para análise. Por razões de compra e venda de cavalos

ou ausência temporária de alguns animais, em determinados equinos não foi possível realizar a totalidade das 5 análises.

Por motivos de venda da totalidade dos cavalos em estudo, e por ausência de corridas de touros durante o período deste estudo, na exploração E não foram efectuadas colheitas na Primavera, tal como não foi efectuada a comparação do número de OPG antes e depois de uma corrida.

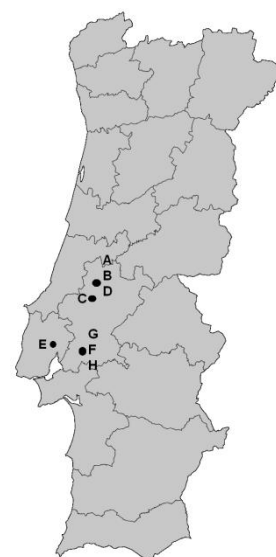
No total foram recolhidas e analisadas 280 amostras de fezes de equinos.

## 5.2. Animais e explorações

Sessenta e sete cavalos permanentemente estabulados e de vocação tauromáquica, distribuídos por oito explorações, foram analisados. A exploração A era a que possuía maior número de cavalos trabalhados para a prática do toureio (14), seguindo-se a exploração G com 10 animais, H e C com 9, F com 8, B com 7, D e E com 5 equinos. Todas as explorações situavam-se na região do Ribatejo e Oeste, 3 pertencentes ao concelho de Tomar (exploração A, B e D), uma ao concelho da Chamusca (C), 3 ao concelho de Coruche (F, G e H) e uma ao concelho da Arruda dos Vinhos (E) (figura 6).

A maioria dos cavalos analisados (95.5%) eram do sexo masculino e cerca de metade pertenciam à raça Puro Sangue Lusitano (tabela 7). A idade destes animais variou desde os 3 até os 17 anos (gráfico 1), com uma média de 9.4 anos (desvio padrão ( $\sigma$ )=3.5).

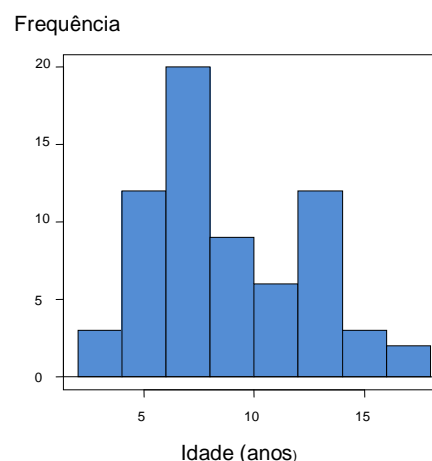
**Figura 6** - Localização das explorações equinas



**Tabela 7** - Sexo e raça dos 67 cavalos estudados

Sexo	Nº de equinos
Masculino	64
Feminino	3
Raça	
Lusitano	34
Anglo-luso	2
Anglo-luso-árabe	13
Luso-árabe	6
Português de Desporto	1
Cruzado	11

**Gráfico 1** - Idade dos equinos em estudo

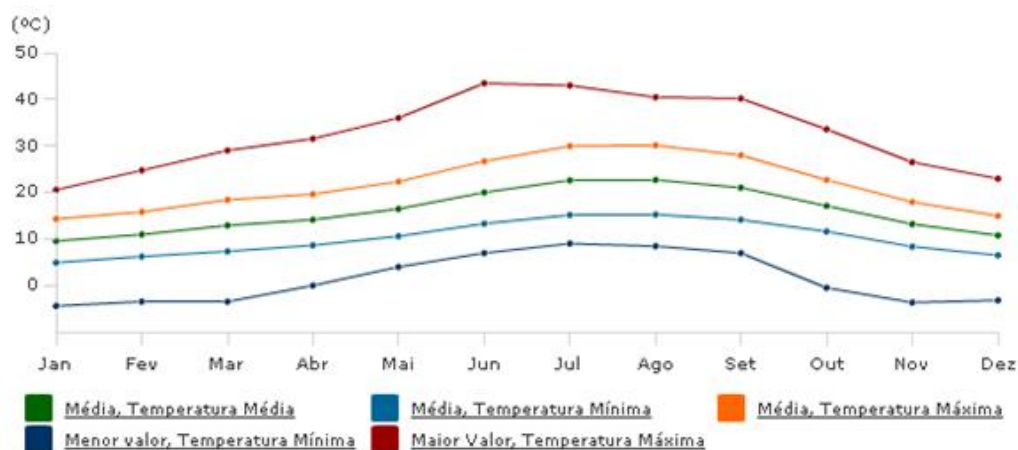




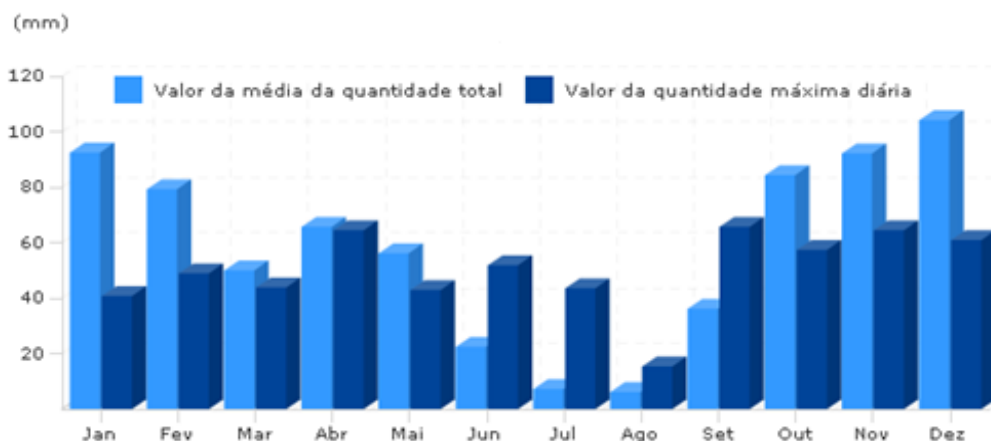
### 5.3. Caracterização climática da área em estudo

A estação climatológica mais próxima dos locais em estudo é a de Santarém, Escola Superior Agrária de Santarém (39°15' N; 08°54' W; a 54m de altitude). Os parâmetros climatológicos apresentados nos gráficos 2 e 3 foram assim recolhidos nesta estação climatológica e são referentes ao período de 1971 a 2000 (Instituto Meteorologia, 2011).

**Gráfico 2** - Temperatura do ar referente ao período de 1971 a 2000, Santarém (IM, 2011).

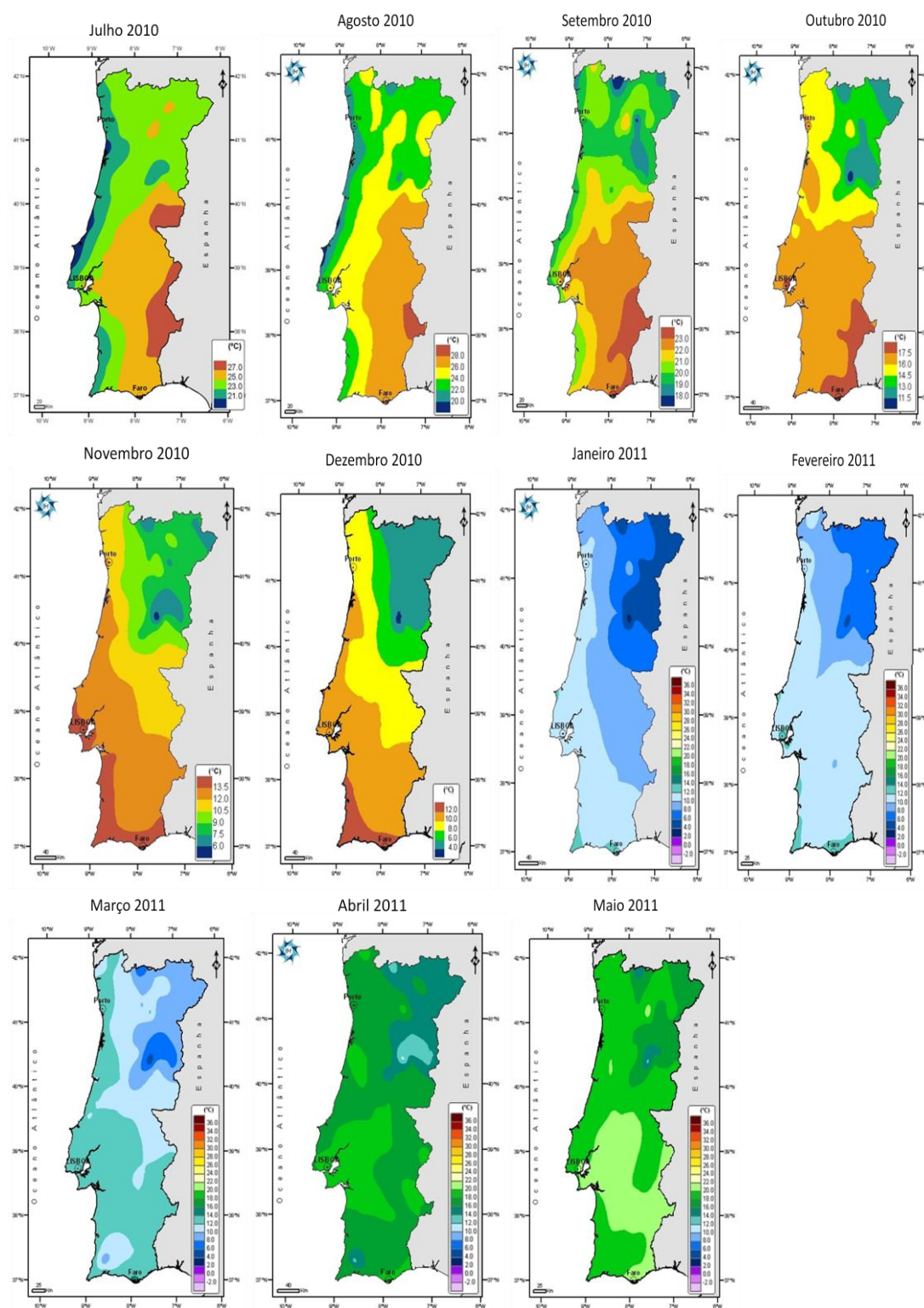


**Gráfico 3** - Precipitação referente ao período de 1971 a 2000, Santarém (IM, 2011).



Durante o período de estudo, na região do Ribatejo e Oeste, os meses de Julho e Agosto foram os que registaram temperaturas médias mais elevadas (23-26°C). Nos meses seguintes as temperaturas médias diminuíram, apresentando mínimos nos meses de Dezembro, Janeiro e Fevereiro (8-12°C). Em Março ainda se assinalaram temperaturas baixas, na ordem dos 12°C, observando-se uma subida nos mesmos valores nos dois últimos meses do período do estudo (figura 7).

**Figura 7** - Média da temperatura média do ar em Portugal continental nos meses em que decorreu o estudo (IM, 2011).



## **5.4. Colheita de informação por inquérito de exploração**

Numa das visitas às explorações, foi efectuado um inquérito aos proprietários dos animais (anexo 1). As questões abrangeram temas como a caracterização da população equina (idade e raça), o controlo parasitário praticado na quinta (frequência e época de desparasitação, produtos utilizados, práticas de rotação de anti-helmínticos, de monitorização dos níveis de parasitismo e de avaliação da eficácia dos tratamentos anti-parasitários) e a intensidade de trabalho dos cavalos (número de corridas anuais por cavaleiro) (anexo 1).

## **5.5. Análises coprológicas**

### **5.5.1. Colheita e armazenamento das amostras**

Com a permissão dos proprietários, amostras fecais de cada cavalo em estudo foram colhidas para a realização de técnicas coprológicas. Estas amostras foram colhidas a partir das camas das boxes e das baias, obtendo amostras o mais frescas possível. Cada amostra foi identificada, armazenada individualmente em sacos de plástico e acondicionada numa mala térmica mantida em refrigeração através do recurso a termoacumuladores. De seguida as amostras foram transportadas até ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UTL. Na impossibilidade de proceder de imediato ao processamento das amostras, estas foram armazenadas num frigorífico a 4°C, sendo processadas 2 a 3 dias após a colheita.

### **5.5.2. Coprologia qualitativa e quantitativa**

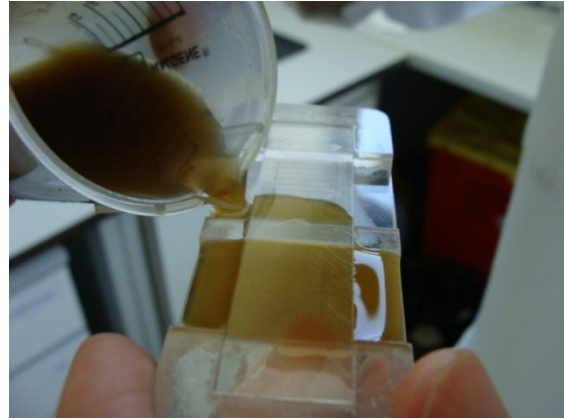
As técnicas coprológicas utilizadas foram baseadas em Thienpoint *et al.* (1986) e Madeira de Carvalho (2001) e foram as seguintes: métodos de flutuação de Willis, em que se utilizou solução saturada de açúcar (anexo 2), o método de sedimentação natural (anexo 3) e o método de MacMaster, com um limiar de detecção de 50 OPG para contagem de ovos fecais (anexo 4).

A técnica laboratorial consistiu em diluir 2 gramas de fezes, previamente homogeneizadas, em 28 ml de solução saturada de açúcar. De seguida a suspensão foi filtrada (figura 8) e colocada nas duas células das câmaras de MacMaster (figura 9). Estas eram de acrílico com a lâmina superior destacável. A contagem foi efectuada nas duas células, multiplicando-se o número de ovos contados por 50 e expressando-se o resultado em número de ovos por grama de fezes (OPG).

**Figura 8** - Filtração das fezes diluídas em solução saturada de açúcar (original).



**Figura 9** - Enchimento das câmaras de de MacMaster (original).

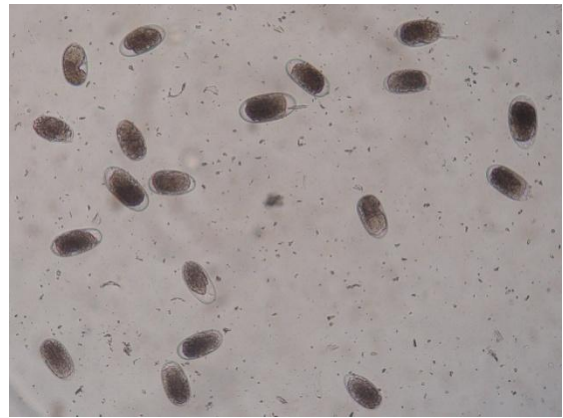


A restante suspensão foi introduzida num tubo de ensaio até o preencher totalmente e colocada uma lamela no seu topo (figura 10). Após 20 minutos, a lamela foi retirada e observada ao microscópio, tendo sido identificados os ovos presentes. Os ovos dos diferentes géneros da família Strongylidae foram identificados globalmente como strongilídeos, devido ao facto de apresentarem características morfológicas idênticas (figura 11). Os cavalos foram considerados negativos quando este método foi negativo.

**Figura 10** - Realização da técnica de flutuação (original).



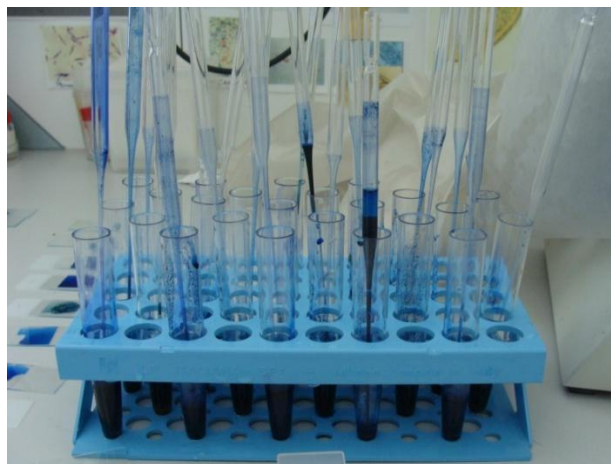
**Figura 11** - Observação de ovos do tipo strongilídeo após técnica de flutuação (original).



Ampliação: aproximadamente 50X

Para análise do sedimento presente no tubo de ensaio, retirou-se sobrenadante, procedeu-se à lavagem do sedimento com água corrente e corou-se com azul metileno (figura 12). Seguidamente, com auxílio de uma pipeta de Pasteur colocou-se duas gotas numa lâmina e observou-se, mais uma vez, ao microscópico.

**Figura 12** - Coloração do sedimento com azul metileno (original).



### 5.5.3. Coproculturas

Devido à impossibilidade de distinguir os ovos de estrongilídeos pelas técnicas referidas, procedeu-se também a culturas coprológicas.

A técnica consistiu em colocar 50-60 gramas de fezes em copos de plástico descartáveis. Estes foram humedecidos, cobertos por um papel de alumínio perfurado (figura 13) e colocados na estufa durante 14 dias à temperatura de 26-28°C e humidade relativa de 70-80%. Após este período de tempo, o copo com fezes foi preenchido por água e invertido sobre uma placa de Petri, a qual foi igualmente preenchida por água. Esta foi recolhida para um tubo de ensaio após 24 h, os quais foram cobertos por uma película de “Parafilm®” e armazenados no frigorífico a 4-5°C até contagem e identificação larvar (Madeira de Carvalho, 2001) (anexo 5).

As L3 foram concentradas por sedimentação natural durante 24 h, observadas a fresco ou coradas e fixadas com soluto de Lugol, e identificadas nos diferentes géneros e/ou espécies de Strongylidae (figura 14). Foi determinada ainda, a abundância proporcional de cada género/espécie presente, sempre que possível com base na contagem de 100 exemplares. Para diferenciação das L3 dos diferentes géneros/espécies de estrongilídeos utilizou-se uma chave dicotómica proposta por Madeira de Carvalho (2001), baseada na observação do número e forma das células intestinais, comprimento total da larva, incluindo a bainha, presença ou ausência de bainha perilarvar e aspecto da cauda da bainha, e em que os diferentes géneros/ espécies de ciatostomíneos são agrupados e identificados em 8 tipos (A a H) (anexo 6). Estes tipos correspondem a conjuntos de várias espécies e, como tal, esta diferenciação permite saber quais as espécies mais prevalentes e, eventualmente, mais resistentes.



**Figura 13** - Coprocultura preparada para ser colocada na estufa (original).



**Figura 14** - L3 (*Gyalocephalus capitatus*) obtida na coprocultura (original).



Ampliação: aproximadamente 160X

## 5.6. Análise estatística

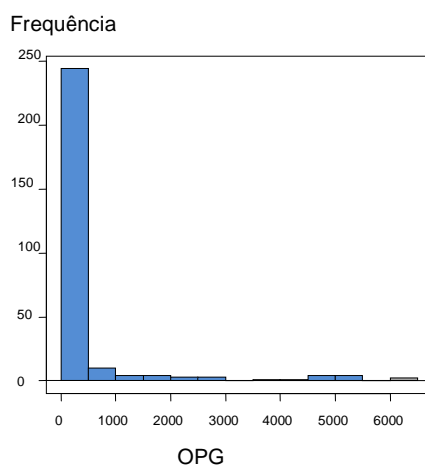
Os dados foram armazenados no software Microsoft Excel 2007®, e para sua análise utilizou-se o software R 2.13.0 2011®. Os resultados de todos os testes estatísticos foram considerados significativos quando o valor de  $p$  foi menor que 0.05. Os testes não paramétricos foram utilizados para a maioria das análises estatísticas, devido a uma distribuição não normal dos dados (OPG). Para análise da correlação entre duas variáveis métricas, foi utilizada a correlação de Spearman. Para avaliar as diferenças entre contagem de ovos fecais (COF) antes e depois da corrida de touros, utilizou-se o teste Wilcoxon. Para avaliar as diferenças no número de OPG e L3/g nas diferentes estações do ano e entre explorações, e entre as idades dos cavalos com menos e mais de 500 OPG, usou-se o teste Kruskal-Wallis. Para uma análise mais detalhada entre explorações, utilizou-se o teste *post-hoc* de TUKEY.

## 6. Resultados

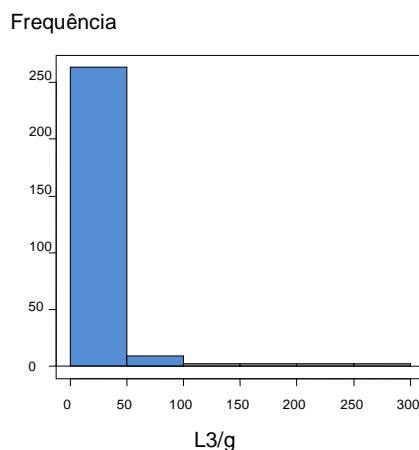
### 6.1. Aspectos globais

A totalidade das explorações e 91% dos 67 animais analisados, estiveram parasitados pelo menos uma vez no decorrer do estudo. Apenas foram identificados ovos do tipo strongilídeo nos animais positivos. As 8 explorações estudadas apresentaram uma prevalência total de 66.1% e 56,1% de animais com ovos e larvas L3 de strongilídeos, respectivamente. As mesmas explorações exibiram um OPG médio de 396 ( $\sigma=1100.8$ ; variação de 0-6350 OPG) (gráfico 4) e uma média de L3/g de 11 ( $\sigma=36$ ; variação de 0-286) (gráfico 5).

**Gráfico 4** - Distribuição de frequências de OPG das 280 amostras fecais.



**Gráfico 5** - Distribuição de frequências de L3/g das 280 amostras fecais.



Das 280 amostras fecais, 28 apresentaram contagem de ovos nas fezes superiores a 1000 OPG (infecções maciças) e 240 igual ou inferiores a 450 OPG (infecções fracas) (tabela 8). Nestes últimos, 163 amostras exibiram contagens inferiores ao nível de sensibilidade da técnica de MacMaster, ou seja, menor 50 OPG.

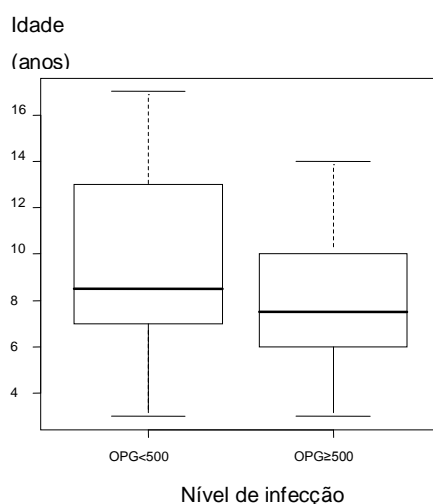
**Tabela 8** - Frequência e idade do nível de infecção definido como categoria de OPG.

Categoria de OPG	Frequência	Prevalência (%)	Média de idades (anos)
Fraca	240	85,71	9,76
Moderada	12	4,29	9,42
Maciça	28	10	7,25

## 6.2. Idade e nível de infecção

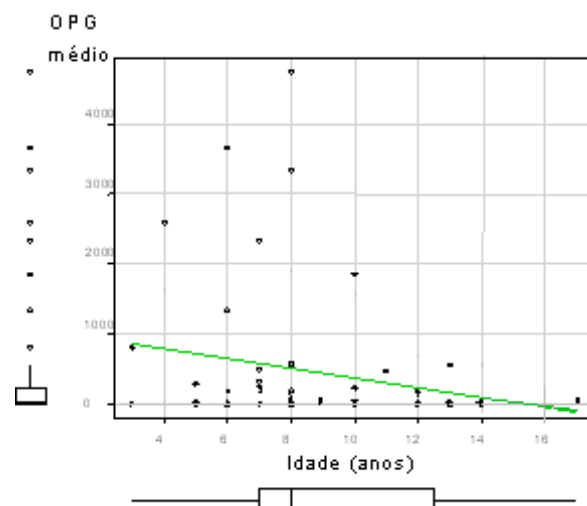
A média da contagem de ovos fecais de cada equino encontra-se negativamente correlacionada com a idade ( $R=-0.346739$ ;  $p=0.004342$ ) (gráfico 7). Adicionalmente, contagens superiores ou iguais a 500 OPG tendem a estar presentes em animais mais jovens (gráfico 6). Diferenças significativas foram reveladas entre as idades dos animais que apresentaram contagens de ovos fecais inferiores e superiores a 500 OPG ( $p<2.2e-16$ ).

**Gráfico 6** - Relação entre infecções fracas e moderadas/maciças e idade dos cavalos





**Gráfico 7** - Relação entre a média de OPG e idade de cada cavalo.

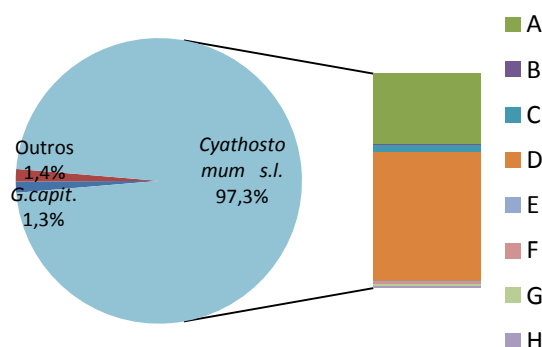


Nota: recta representa a correlação entre idade e OPG médio de cada cavalo; pontos representam o OPG médio de cada cavalo analisado.

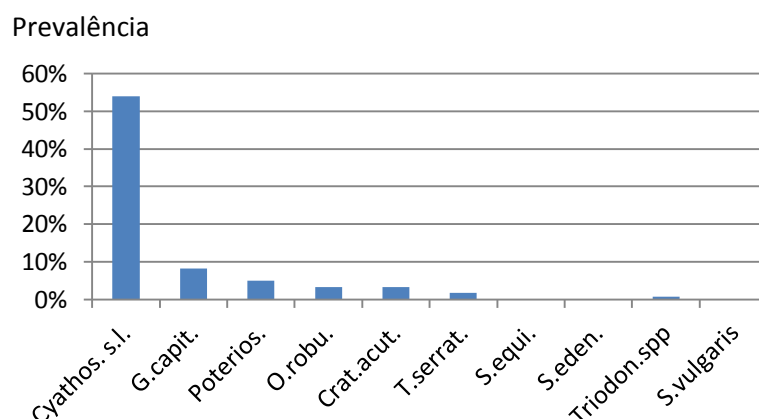
### 6.3. Coproculturas

Todos animais com coproculturas positivas encontravam-se parasitados por estrongilídeos. De facto, ovos e larvas desta família foram os únicos identificados pelas técnicas utilizadas. Os parasitas pertencentes à sub-família Cyathostominae foram os mais abundantes (99.2%). Desta sub-família destaca-se o género *Cyathostomum sensu latu* com 97.3% do total de L3 identificadas (gráfico 8) e com uma prevalência de 53.9% (gráfico 9). As diferentes espécies de ciatostomíneos foram agrupados e identificados em 8 tipos (A a H). *Cyathostomum spp.* tipo D e A foram os mais abundantes (58,2% e 31,9%, respectivamente) e prevalentes (48.6%.e 46.4%, respectivamente) (gráfico 10). Em relação à sub-família *Strongylinae*, nenhuma larva pertencente ao género *Strongylus* foi identificada.

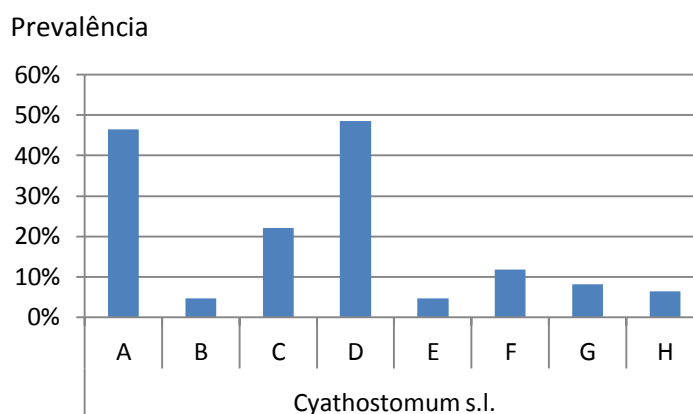
**Gráfico 8** - Abundância proporcional dos diferentes géneros/espécies de estrongilídeos.



**Gráfico 9** - Prevalência larvar dos diferentes géneros/ espécies de estrongilídeos.



**Gráfico 10** - Prevalência larvar dos diferentes tipos de *Cyathostomum s.l.*

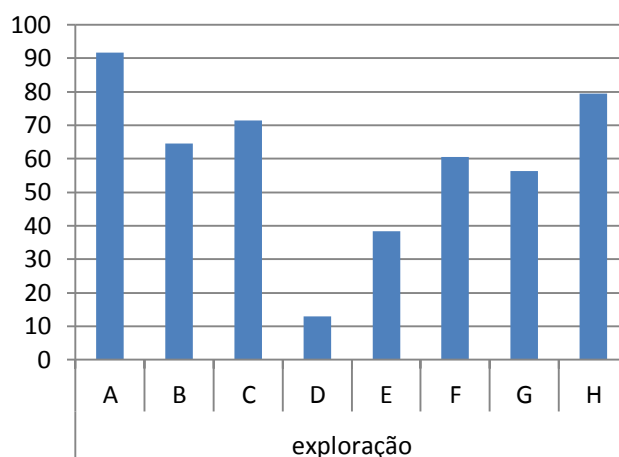


#### 6.4. Prevalência e contagem de ovos fecais nas diferentes explorações

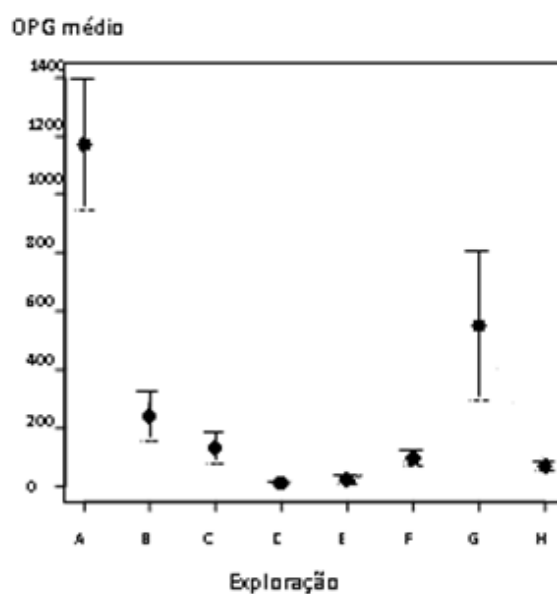
A maioria das explorações apresentou prevalências totais maiores que 50%. Apenas as explorações D e E exibiram prevalências menores (13 e 38.5%, respectivamente). A exploração A foi a que apresentou um valor de prevalência maior (91.7%) (gráfico 11).

Situação idêntica ocorreu em relação à média da contagem de ovos fecais ao longo do ano nas 8 explorações, em que a quinta A apresentou valores médios de OPG mais altos (1168). As restantes quintas, com exceção da G (550 OPG), apresentaram OPG médios totais inferiores a 250 OPG (gráfico 12). Os equinos das explorações D e E foram os que obtiveram, em média, COF mais baixas (11 e 23 OPG respectivamente). Comparando as diferenças nos valores de OPG médios das diferentes explorações, constatou-se que estas são significativas apenas entre a exploração A e as restantes, com exceção da G ( $p < 0.01$ ).

**Gráfico 11 - Prevalência das diferentes explorações equinas.**



**Gráfico 12 - OPG médios das diferentes explorações.**



## 6.5. Dinâmica do número de OPG e de L3/g ao longo do ano

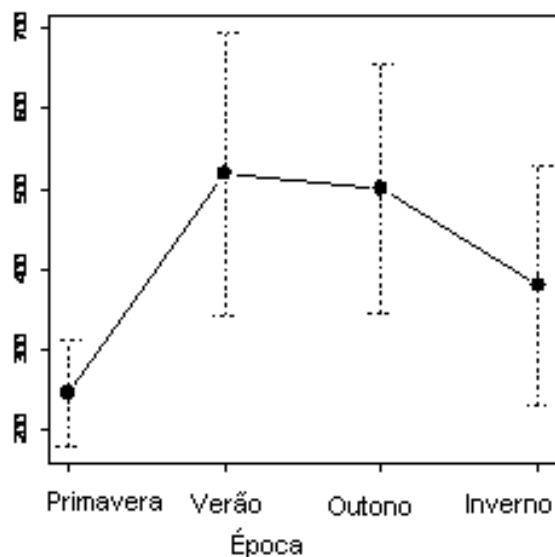
A média dos OPG ao longo do ano de estudo apresentou valores mais altos no Verão (518;  $\sigma=1344.5536$ ) e Outono (500;  $\sigma=1272.4309$ ) e mais baixos na Primavera (247;  $\sigma=616.6164$ ) e Inverno (379;  $\sigma=1178.251$ ) (gráfico 13).

Em relação às larvas infectantes obtidas nas coproculturas, o número de L3/g não oscilou muito ao longo do ano (gráfico 14). Ainda assim, é possível verificar que no Inverno o número de L3/g registou um valor mínimo (8.3;  $\sigma=37.95$ ), aumentando ao longo da

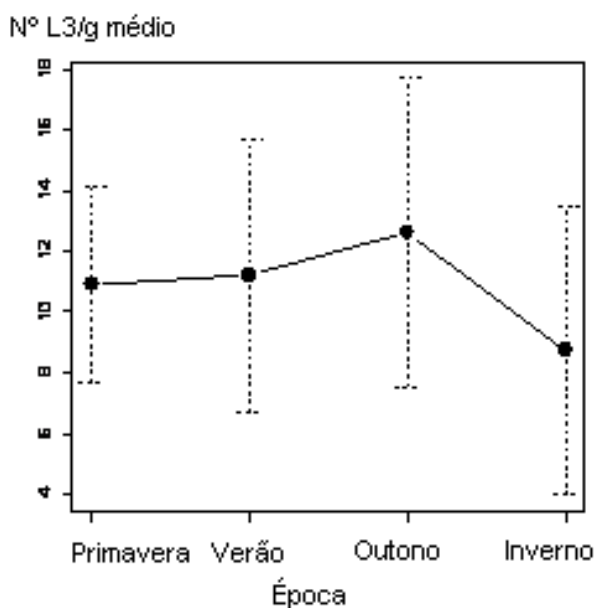
Primavera (10.9;  $\sigma=30.7$ ) e do Verão (11.2;  $\sigma=34.6$ ) até atingir um valor máximo no Outono (12.6;  $\sigma=42.3$ ).

As diferenças entre OPG médio e L3/g nas quatro estações do ano não são significativas ( $p=0.3013$  e  $p=0.4228$  respectivamente)

**Gráfico 13** - Evolução do OPG médio nas diferentes estações do ano.



**Gráfico 14** - Evolução de L3/g nas diferentes estações do ano.

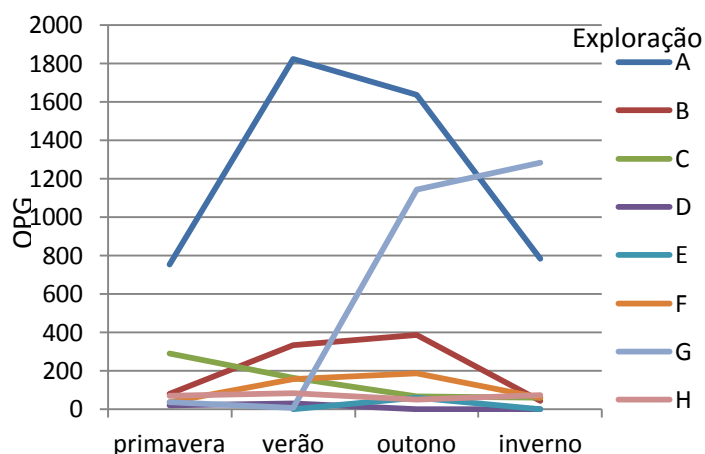


Em relação à evolução do OPG nas 8 explorações (gráficos 15-23), todas excepto a C e G registaram um aumento da Primavera para o Verão. Um aumento para quase o dobro do número de OPG médios da totalidade das explorações, da Primavera para Verão, reflecte esta tendência geral de aumento dos OPG entre estas duas estações do ano. Em termos de valor de OPG médio, 3 explorações (A, D e H) exibiram um pico no Verão.

No caso da exploração E, não é possível tirar nenhuma conclusão sobre a evolução do número de OPG nestas duas estações devido a ausência por venda dos cavalos em estudo

e, por conseguinte, ter sido impossível recolher amostras. Nas explorações G e H não foi possível a recolha de amostras à totalidade dos animais em estudo no verão como tal conclusões sobre a evolução do número de OPG nesta estação são limitadas.

**Gráfico 15 - Evolução do OPG médio das explorações em estudo.**



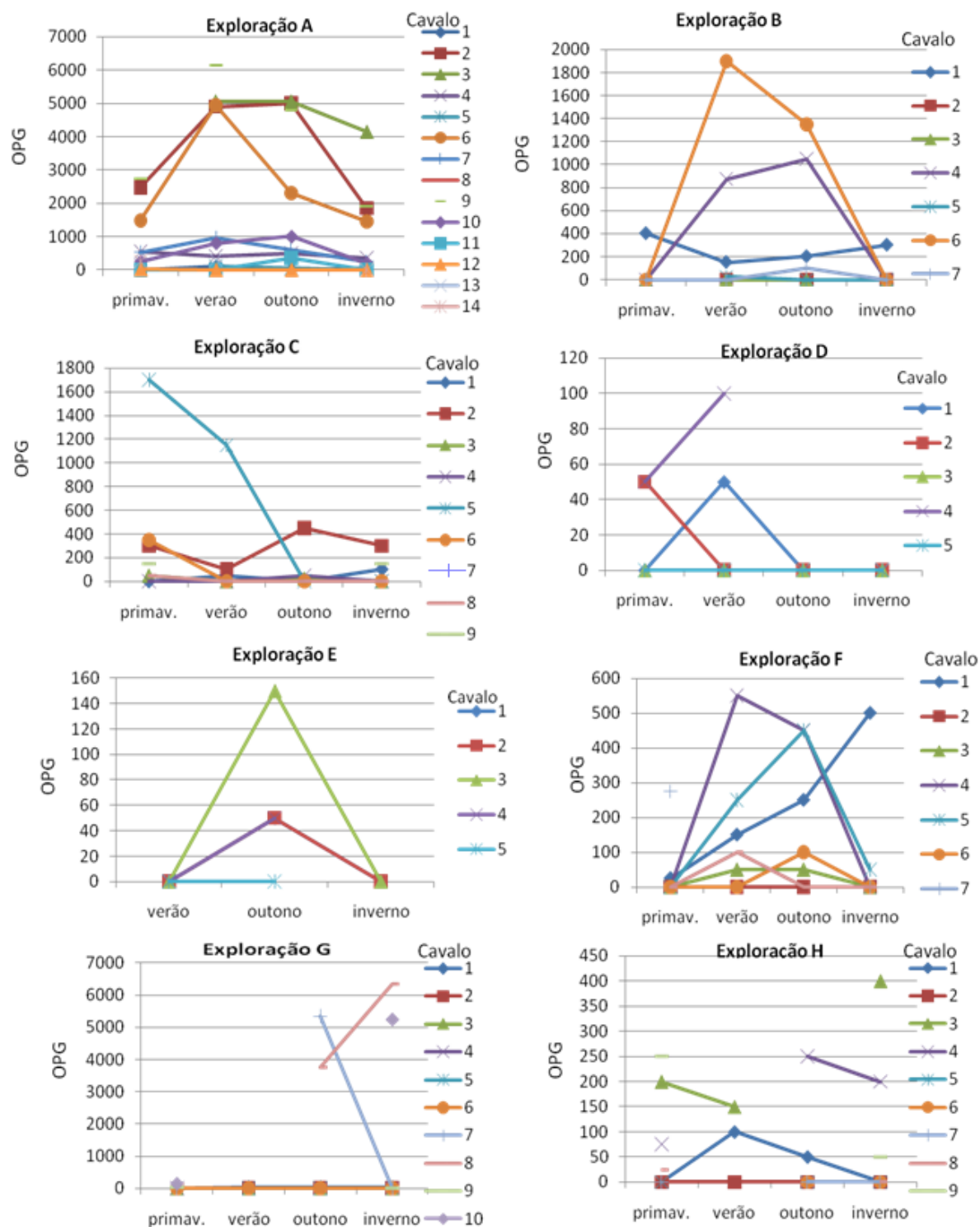
A dinâmica da COF do Verão para Outono foi menos consensual. Nas explorações A, C, D e H em termos gerais a COF diminuiu. Pelo contrário, nas restantes houve, no geral, um aumento, apresentando as quintas B, E e F um pico no valor de OPG médio no Outono. O incremento observado na quinta G coincidiu com a chegada de 2 novos animais (7 e 8), os quais apresentaram COF elevadas. Apesar do cavalo 7 ter registado um abrupta diminuição na COF no Inverno, o aumento observado no Outono estendeu-se pelos meses de inverno, registando esta exploração um pico nesta estação. Para este facto, contribuiu a compra de mais 2 cavalos (9 e 10), um deles apresentando 5250 OPG, e o aumento do número de OPG do cavalo 8.

Na exploração H, apesar dos dois equinos com contagens positivas no Outono terem registado uma redução, houve um aumento ligeiro no OPG médio no inverno coincidente com o regresso do cavalo 3 à herdade. Nas restantes explorações observou-se uma diminuição na estação mais fria, excepto a D em que todos os cavalos continuaram a apresentar contagens negativas.

As explorações A, H, F e G demonstraram uma diminuição do OPG médio na primavera, apesar de ligeira nas três primeiras. Na B este número aumentou após a venda de alguns cavalos (2 e 5) e ao aumento do OPG do cavalo 1. Igual situação passou-se na C e D, mais acentuada no primeiro caso, registando mesmo um pico nesta estação do ano.

As diferenças observadas no número de OPG nas diferentes explorações foram consideradas significativas na primavera ( $p=0.001286$ ), no verão ( $p=0.01571$ ) e no Outono ( $p=0.009291$ ). No inverno, no entanto, o mesmo não se verificou ( $p=0.1425$ ).

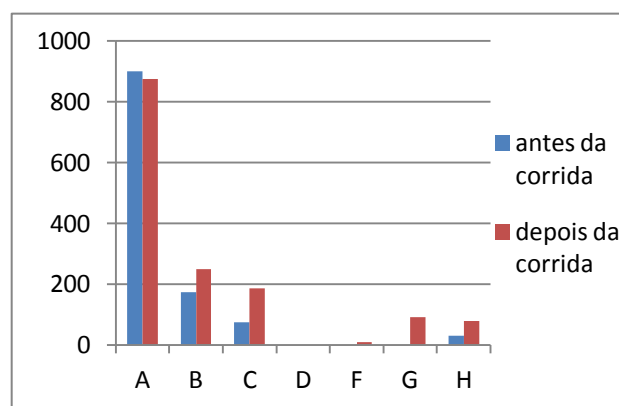
**Gráfico 16-23 - Evolução do OPG individual de cada exploração.**



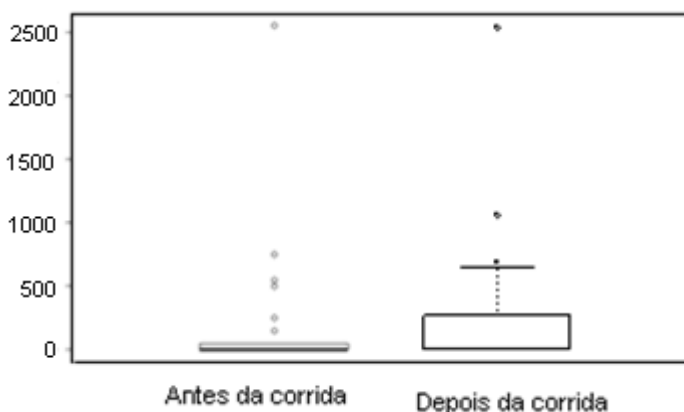
## 6.6. Influência das corridas de touros na contagem de ovos fecais

De um total de 34 cavalos analisados antes e depois de terem participado numa corrida de touros, 10 tiveram aumentos no número de OPG e 3 diminuíram. Os restantes, os quais possuíam 0 OPG, excepto um cavalo com 50 OPG, mantiveram a mesmas contagens após a corrida. Em relação ao número de OPG médio de cada exploração, observou-se um aumento em 5 das 7 quintas analisadas, uma ligeira diminuição na quinta A e a manutenção de 0 OPG na D (gráfico 24). Em termos médios houve um aumento de 48 OPG após a corrida (gráfico 25). A diferença revelada neste estudo antes e depois da corrida de touros é estatisticamente significativa ( $p=0.02259$ ).

**Gráfico 24** - Comparação do OPG médio de cada exploração antes e depois de uma corrida



**Gráfico 25** - Comparação do OPG médio global dos cavalos analisados antes e depois de uma corrida de touros.



## 6.7. Inquérito

Nas 8 explorações estudadas verifica-se o predomínio de tratamentos anti-helmínticos com ivermectina, com especial referência ao Eqvalan® (tabela 9). Em duas explorações utilizou-se até especialidades não comercializadas para equinos, como são os casos de Ivomec® (Merial) e de Virbamec® (Virbac) soluções injectáveis para bovinos, ovinos ou suínos. Oxibendazol e moxidectina também foram utilizados mas em muito menor escala. O praziquantel foi usado em associação em duas situações.

Em relação à frequência de tratamentos, a maioria (75%) desparasita duas vezes por ano, sendo que metade destas adopta um intervalo entre tratamentos de 6 meses e a outra metade de 3 e 9 meses. A época do ano em que efectuam o tratamento varia bastante consoante a quinta. Apenas 3 explorações têm o mesmo esquema de tratamento no Outono e Inverno. De referir, ainda, que 6 cavaleiros efectuam um do(s) tratamento(s) no inverno.

A totalidade das explorações não fazia avaliação da eficácia dos tratamentos e todas excepto a D (87.5%) faziam a rotação dos anti-parasitários. Contudo, esta, muitas vezes, não correspondia a uma rotação dos princípios activos, mas sim apenas da especialidade farmacêutica. Quando questionados acerca do modo como faziam essa rotação, a totalidade dos inquiridos afirmou que não tem nenhum critério.

Quanto à intensidade de corridas de cada cavaleiro, metade tinham em média mais de 40 corridas por temporada, os restantes, em geral, possuíam um número relativamente baixo de corridas. Os cavaleiros B e E apenas tiveram uma corrida na temporada de 2010.

**Tabela 9** - Controlo parasitário praticado em 2010/ 2011 e intensidade de corridas de touros em cada exploração.

Exploração	Nº tratamento / ano	Épocas	Princípio activo	Especialidad e farmacêutica	Rotação de anti-helmínticos	Nº corridas/ temporada
A	1	Inverno	IVM	Eqvalan®	Sim	>40
B	2	Inverno/ verão	IVM+PZQ Oxibendazo l	Equimax® Helminzol®	Sim	<5
C	2 <sup>b</sup>	Primaver a/ verão	IVM MOX+PZQ	Ivomec Equest	Sim	5-10
D	1 <sup>a, c</sup>	Primaver a	IVM	Eqvalan®	Não	5-10
E	2 <sup>b</sup>	Inverno/ verão	IVM	Eqvalan® Virbamec®	Sim	<5
F	2	Outono/ inverno	IVM	Eqvalan®	Sim	>40
G	2	Outono/ inverno	IVM	Eqvalan®	Sim	>40
H	2	Outono/ inverno	IVM	Eqvalan®	Sim	>40

<sup>a</sup> 2 Nos cavalos mais jovens; <sup>b</sup> Devido ao resultado das análises efectuadas, apenas foi realizado um tratamento antes do início do estudo; <sup>c</sup> Devido ao resultado das análises efectuadas, apenas foi realizado um tratamento ao cavalo 4.



## 7. Discussão de resultados

Perante a escassez de estudos epidemiológicos em cavalos de toureio, actividade de grande tradição em Portugal, este trabalho possibilitou caracterizar o nível de parasitismo e a sua evolução ao longo do ano civil e da temporada tauromáquica. Além disso, estudou-se a influência das corridas e da intensidade do trabalho na eliminação de ovos e analisou-se as medidas de controlo parasitário instituídas nas explorações estudadas.

### 7.1. Nível de parasitismo

As 8 explorações apresentaram resultados positivos ao parasitismo por *estrongilídeos*. Os cavalos de toureio analisados apresentam uma prevalência média anual relativamente elevada (66%), encontrando-se a grande maioria (91%) parasitados pelo menos uma vez no decorrer do estudo. Esta prevalência apesar ser ligeiramente inferior a obtida em outros estudos desenvolvidos em Portugal em cavalos estabulados (Madeira de Carvalho, 2001; Baptista, 2008; Costa, 2011), reafirma a importância da *estrongilidose* intestinal na produção equina. De realçar que num estudo levado a cabo por Costa (2011), no qual os cavalos de desporto (saltos e “dressage”) constituíam grande parte da amostragem, a prevalência obtida foi 80%.

O resultado de 2 trabalhos desenvolvidos na Alemanha, Itália e Reino Unido (Hinney *et al.*, 2011; Traversa *et al.*, 2010) revelaram prevalências similares às obtidas neste trabalho (tabela 10). Alguns trabalhos referenciados na tabela mostram algumas discrepâncias neste valor que podem ser explicadas por a maioria serem estudos transversais e por os cavalos serem mantidos em condições diferentes. De facto, os *estrongilídeos* afectam especialmente os equídeos em pastoreio, os quais encontram-se mais em contacto com as formas infectantes e, por norma, são menos desparasitados.

**Tabela 10** - Prevalência de estrongilídeos em diferentes países.

País	Autor	Número de animais/ quintas	Sistema de produção	Método	Prevalência de estrongilídeos (ciatost./ estrang./ total) (%)
Portugal	(Madeira de Carvalho, 2001)	20/ - 6/ - 117/ 1	Pastagem Estabulação Estabulação	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 98.5 N.e./ N.e./ 76 N.e./ N.e./ 74
	(Costa, 2011)	50/ 14	Estabulação e semi-Estabulação	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 80
	(Baptista, 2008)	40/ 7 25/ 7	Estabulação Pastagem	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 73 N.e./ N.e./ 88
	(Meana, 2008)	686/ -	N. e.	Necrópsia	N.e./ N.e./ 52
Espanha	(Francisco <i>et al.</i> , 2009)	418/ -		Amostra fecal	N.e./ N.e./ 89
França	(Collbert-Laugier <i>et al.</i> , 2002)	42/ -	N. e.	Necrópsia	93/ N.e./ N.e.
Itália	(von Samson-Himmelstjerna <i>et al.</i> , 2009)	737/ 26	N. e.	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 61
	(Traversa <i>et al.</i> , 2010)	1646/ 60		Amostra fecal	67/ N.e./ N.e.
Reino Unido	(von Samson-Himmelstjerna <i>et al.</i> , 2009)	550/ 16	N. e.	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 61
	(Traversa <i>et al.</i> , 2010)	737/ 22		Amostra fecal	63/ N.e./ N.e.
Alemanha	(von Samson-Himmelstjerna <i>et al.</i> , 2009)	742/ 20	N. e.	Amostra fecal	N.e./ N.e./ 48
	(Hinney <i>et al.</i> , 2011)	1407/ 126	N. e.	Amostra fecal	67/ N.e./ N.e.
	(Traversa <i>et al.</i> , 2010)	737/ 22		Amostra fecal	48/ N.e./ N.e.
	(Gawor, 1995)	50/	N. e	Necrópsia	N.e./ 74 <sup>1</sup> / N.e.
Polónia USA	(Lyons & Tolliver, 2004)	733 (poldros)/14		Amostra fecal	N.e./ N.e./ 28
	(Lyons & Tolliver, 2006)	16/ 2	pastagem	Necrópsia	100/ 81 <sup>1</sup> / 100
Brasil	(Silva, Costa, Santos & Carvalho, 1999)	36/	N. e.	Necrópsia	100/ N.e./ N.e.
Austrália	(Bucknell, Gasser & Beveridge, 1995)	150/	N.e.	Necrópsia	93/ 38/ 95

1 - Valor da prevalência de estrongilíneos corresponde a prevalência de *S. vulgaris*/ o que tem maior prevalência.

N.e. – não especificado; ciatost. – ciatostomíneos; estrang. - estrongilíneos

A eliminação média anual de ovos atingiu 396 OPG, muito inferior ao valor registado por Madeira de Carvalho (2001) em cavalos estabulados. A esmagadora maioria (86%) das amostras apresentava-se negativas ou com infecções leves, enquanto as infecções

moderadas e maciças estiveram presentes em 14% das mesmas (4 e 10% respectivamente). Esta distribuição, onde a maioria dos parasitas se encontra concentrada numa pequena parte da população, é típica dos estrongilídeos (Madeira de Carvalho, 2003a; Nielsen *et al.*, 2006a). Ainda relacionado com a distribuição dos estrongilídeos, verificou-se que nestes cavalos existe uma correlação negativa entre a idade e valor de OPG, havendo uma tendência para que as infecções moderadas e maciças estejam presentes nos animais mais jovens. Apesar de equídeos de qualquer idade serem susceptíveis à infecção por estrongilídeos, vários estudos estão de acordo com os resultados aqui apresentados e demonstram que os equinos mais jovens são os que apresentam OPG mais elevados (Bucknell *et al.*, 1995; Osterman Lind *et al.*, 1999; Francisco *et al.*, 2009; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009; Kornaś, Cabaret, Skalska & Nowosad, 2010).

A imunidade adquirida contra ciatostomíneos desenvolve-se lentamente com a idade, mas permanece incompleta. Esta resistência contra todas as fases do parasita, é adquirida com a exposição ao parasita e provavelmente regulada geneticamente. Os mecanismos associados à resposta imunitária contra ciatostomíneos podem ser os seguintes: rápida expulsão das L3 infectantes reduzindo o número de LI3; indução de hipobiose de L3 resultando num aumento de LI3; morte e expulsão das larvas na mucosa; expulsão activa das L4 adultos no lúmen intestinal; perturbação da fecundidade dos adultos (Klei & Chapman, 1999).

A exploração A foi a que apresentou maiores prevalências (91.67%) e OPG médios mais elevados (1168). Para esta ocorrência pode ter contribuído o facto de, apenas ser praticado uma desparasitação por ano, possuir maior número de animais e realizar mais de 40 corridas por ano. Por outro lado, as explorações D e E, com menor número de cavalos (5) das 8 estudadas, foram as que obtiveram menores prevalências (13.04 e 38.46% respectivamente) e OPG médios (11 e 23 OPG respectivamente). Aqui poderá fazer-se sentir a acção do factor densidade animal, pois quanto maior o número de animais, mais fácil a transmissão e maior a prevalência (Arneberg, Skorpning, Grenfell & Read, 1998).

Das 280 amostras analisadas apenas foram identificados ovos e larvas de estrongilídeos. A contagem e identificação das L3 obtidas nas coproculturas permitiu determinar a prevalência e abundância dos diferentes géneros/ espécies dessa família. O género *Cyathostomum s.l.* foi o mais abundante (97.3%) e prevalente (53.9%), situação já verificada em outros estudos nacionais (Madeira de Carvalho, 2001; Madeira de Carvalho *et al.*, 2005; Baptista, 2008; Costa, 2011).

Os ciatostomíneos tipo D e A (figura 15 e 16) foram os mais abundantes (58,2 e 31,9%, respectivamente) e prevalentes (48.6 e 46.4% respectivamente). Num estudo da autoria de Kornaś *et al.* (2009), os tipos A, B, C e D representaram, respectivamente, 58, 2, 20, 15% do total de larvas.

Quanto às L3 dos outros géneros/ espécies destaca-se o *G. capitatus* e *Poteriostomum* spp., os segundos e terceiros mais prevalentes e abundantes, incluídos na sub-família Cyathostominae, e a não presença de larvas infectantes do género *Strongylus*. Estes resultados revelam a extrema importância do parasitismo por ciatostomíneos neste grupo de cavalos de trabalho e estão de acordo com a tendência actual de declínio do género *Strongylus* e aumento de importância dos ciatostomíneos (Nielsen & Kaplan, 2008).

**Figura 16** - *Cyathostomum* s.l. tipo D (original)



Ampliação: aproximadamente 90X

**Figura 15** - *Cyathostomum* s.l. tipo A (original).



Ampliação: aproximadamente 110X

## 7.2. Dinâmica do nível de parasitismo ao longo do ano

Apesar de não se ter verificado uma diferença marcada entre estações no nível médio de eliminação de OPG, estes valores foram maiores no Verão (518;  $\sigma=1344.6$ ) e Outono (500;  $\sigma=1272.4$ ), decrescendo durante o Inverno (379;  $\sigma=1178.2$ ) e Primavera (247;  $\sigma=616.6$ ). Esta observação pode dever-se à preferência que os cavaleiros, em geral, demonstraram em efectuarem um do(s) tratamento(s) anti-parasitários na pausa da temporada tauromáquica (Inverno) e ao início da hipobiose das larvas de ciatostomíneos nos meses mais frios. Contudo, na Primavera, estação do ano em larvas enquistadas emergem e, por conseguinte, normalmente há um aumento da carga parasitária adulta, registaram-se baixos valores que podem ser justificados pelas recentes desparasitações e por as análises correspondentes a esta estação terem sido realizadas no início da mesma.

Madeira de Carvalho (2001) relatou picos no OPG médio em todas as estações do ano em garranos bravios, sendo o Verão a estação em que esse valor é maior. Numa exploração do Ribatejo, o mesmo autor observou que, apesar de não se ter verificado uma diferença marcada entre estações no nível médio de eliminação de OPG, estes valores foram maiores na Primavera e Outono.

Herd (1986) demonstrou a existência de 2 picos nos valores de OPG, na Primavera e Verão, sendo este último o que apresenta valores mais elevados nas COF. Valores mais altos no Verão também foram observados por Craig, Bowen e Ludwig (1983) em éguas e poldros e por Madeira de Carvalho *et al.* (2007b) em asininos e híbridos estabulados. A existência de

2 picos também foi relatada por Slocombe *et al.* (1987) no Canadá e por Herd *et al.* (1985) no EUA, no entanto, nestes estudos esses picos foram registados no final da Primavera/início do Verão e outro no final do Verão/ início do Outono. Madeira de Carvalho (2001) também refere picos sazonais na Primavera e no Outono em poldros de 1-3 anos. Resultados idênticos ao presente estudo obtiveram Baudena *et al.* (2000), que apesar de não ter encontrado diferenças significativas entre as estações do ano, o número de OPG foi maior no Verão e Outono.

Em relação à evolução do OPG a nível das explorações, constatou-se que a maioria teve picos de eliminação de ovos fecais no Verão e Outono. Apenas nas explorações C e G, o valor mais alto de OPG médio foi registado noutras estações do ano. Para este acontecimento poderá ter contribuído a não desparasitação dos cavalos, excepto o cavalo 7, há cerca de um ano na C (devido ao resultados das análises) e à compra de 3 animais (número 7, 8 e 10) com OPG elevados (5350, 3750 e 5250) na G. A monitorização e eventual desparasitação dos novos cavalos evitariam o aumento do OPG médio desta exploração registado após a entrada destes 3 cavalos. Um estudo epidemiológico realizado por Madeira de Carvalho (2001), revelou que 57 a 72% dos cavalos que entravam na exploração em estudo encontravam-se infectados com *strongilídeos*. As medidas de controlo parasitário são, deste modo, aconselháveis em todas explorações no momento da entrada de novos cavalos.

As diferenças das médias de OPG das várias explorações foram marcadas em todas as estações do ano, excepto no Inverno. Como nesta estação não ocorrem corridas, poderia pensar-se que as diferenças registadas no resto do ano se deveriam às diferentes intensidades de trabalho e à presença de corridas. No entanto, é mais provável que seja devido à desparasitação no Inverno.

### **7.3. Influência das corridas na eliminação de ovos nas fezes**

Da comparação e análise do número de OPG um a dois dias antes e dois a três dias depois de uma corrida de touros, constatou-se que houve diferenças significativas entre estas duas alturas. O aumento individual (29%) e médio observado após a corrida pode ser justificado pelo stress a que os cavalos são sujeitos. De facto, o stress inerente ao transporte, à permanência na praça de touros e à sua actuação dentro da praça é inevitável e acompanha qualquer cavalo de desporto durante a sua prova. O mecanismo de como o esforço físico e psicológico poderá levar a um aumento da eliminação de ovos fecais não se encontra claramente esclarecido. Contudo, o stress e o consequente aumento de cortisol poderá ser causa de imunodepressão, factor desencadeador de maior eliminação fecal de formas parasitárias de *strongilídeos*. Este aumento na eliminação de ovos fecais pode ser

explicado por um aumento da fecundidade dos parasitas adultos presentes no lúmen do intestino e/ou pelo desenvolvimento das larvas de ciatostomíneos em hipobiose.

Klei e Chapman (1999) sugerem que a idade e/ ou a imunidade adquirida afecta a produção de ovos pelas fêmeas de ciatostomíneos, o que explica o OPG significativamente mais elevado nos jovens, embora estes, muitas vezes possuam quantidade de adultos similares ao mais velhos.

A influência do stress e do esforço físico na eliminação de ovos nas fezes foi demonstrado em Portugal em poldros na altura do desbaste. Num estudo desenvolvido por Agrícola, Jorge, Barbosa, Madeira de Carvalho e Fazendeiro (1999), o nível de OPG médio dos poldros em desbaste, inicialmente de 408, aumentou para 2127 e 1487, respectivamente 1 e 2 meses depois da estabulação. Mais recentemente, Gersão e Madeira de Carvalho (2005) defendem que o stress do desbaste poderá ser a causa principal do pico de OPG registado num estudo por eles desenvolvido.

Num estudo idêntico ao presente trabalho desenvolvido em cavalos de obstáculos (Costa, 2011), apesar de 41% dos cavalos analisados terem registado aumentos no nível de OPG após as provas, estas diferenças antes e depois do evento não foram significativas. A proporção de equinos de toureio que eliminaram maior número de ovos nas fezes na análise após a corrida foi menor no presente estudo. Para esta ocorrência pode ter contribuído o facto de 59% dos equinos apresentarem OPG negativos. No entanto, a diferença significativa dos OPG antes e depois, reforça a importância daquela actividade.

Os resultados apresentados reafirmam a importância do stress e do esforço físico, constituindo este um factor indutor de aumentos nos níveis de eliminação parasitária. Estes factores deverão, assim, estar presentes quando o médico veterinário planeia a monitorização e o controlo parasitário de cavalos de trabalho.

#### **7.4. Medidas de controlo parasitário praticado nas explorações**

O controlo parasitário praticado nas explorações em estudo é muito idêntico a um inquérito a 120 proprietários realizado em Portugal (Martins, Sousa & Madeira de Carvalho, 2005). A maioria faz duas desparasitações anuais (75%), sendo utilizado ivermectina em todas as quintas. Outros princípios activos utilizados, em muito menor escala, nos anos correspondentes ao decurso do estudo foram a moxidectina, pertencente a mesma classe da ivermectina, e oxibendazol, molécula incluída na classe dos benzimidazóis cujas resistências se encontram generalizadas (Chapman *et al.*, 1996; Lyons *et al.*, 1996; Hutchens & DiPietro, 1996; Lyons *et al.*, 2001; Nielsen & Kaplan, 2008; Lyons *et al.*, 2008). A utilização generalizada da ivermectina deve-se provavelmente à sua facilidade de administração aliada à sua elevada eficácia no controlo de estrongílídeos gastrointestinais, à sua fácil aquisição e razoável valor comercial. A frequência de tratamentos é relativamente

baixa quando comparada com outros países europeus. Na Alemanha, Itália e Reino Unido, os proprietários de equinos realizam uma média de 3, 2.3 e 3.2 tratamentos anuais aos seus cavalos adultos (von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009).

Em relação as especialidades farmacêuticas utilizadas é de evidenciar que Eqvalan<sup>®</sup> foi a mais utilizada (75%) e em duas explorações utilizaram-se especialidades não comercializadas para equinos, como foram os casos de Ivomec<sup>®</sup> (Merial) e de Virbamec<sup>®</sup> (Virbac) ambos soluções injectáveis para bovinos, ovinos ou suínos. Estas especialidades podem ter fármacocinéticas e farmacodinâmicas em equídeos que não permitam a obtenção de concentrações terapêuticas óptimas, podendo levar, deste modo, ao desenvolvimento de resistências.

As épocas em que os proprietários desparasitam os seus cavalos varia bastante. No entanto, de uma forma geral, existe uma tendência para que a administração de anti-helmínticos seja efectuada no término da temporada tauromáquica (Outono/ Inverno) e antes do seu início (Inverno/ Primavera). Apenas 3 explorações fazem uma das desparasitações no Verão, altura da temporada tauromáquica em que o número de corridas é maior e em que o valor do OPG médio é mais elevado.

A totalidade dos inquiridos, excepto a exploração D (87.5%), fazem rotação de anti-helmínticos. Esta percentagem é elevada quando comparada com outros inquéritos nacionais (37%) (Martins *et al.*, 2005) e estrangeiros (67%) (Nielsen, Monrad & Olsen, 2006b). No entanto, a rotação realizada nas quintas em análise é um pouco aleatória, muitas vezes condicionada pela acessibilidade e preço dos anti-parasitários e, por vezes, não é uma rotação real, uma vez que a classe de anti-helmínticos utilizada é a mesma, apenas variando a especialidade farmacêutica.

A resistência generalizada dos ciatostomíneos a todas as classes de anti-helmínticos, com excepção das lactonas macrocíclicas (Lyons *et al.*, 2000), torna o controlo parasitário cada vez mais importante. Apesar dos proprietários inquiridos utilizarem uma frequência de desparasitação baixa, factores de risco de desenvolvimento de resistências foram identificados na avaliação dos inquéritos: 1) em todas explorações, a frequência de tratamentos anti-parasitários é igual para todos equinos, independentemente do OPG; 2) as rotações são feitas sem critério o que poderá seleccionar populações parasitárias resistentes e acelerar o desenvolvimento de resistências; 3) em duas explorações foram utilizadas especialidades farmacêuticas não comercializadas para equídeos; 4) o tratamento anti-parasitário, de um modo geral, não tem uma base estratégica, sendo realizado na maioria das vezes em meses onde não existem corridas, o que não corresponde necessariamente as épocas de maior eliminação de ovos nas fezes; 5) nenhuma quinta faz a monitorização da eliminação de ovos fecais e da eficácia das desparasitações.

De saudar e referir que 3 cavaleiros alteraram o seu habitual programa de controlo anti-parasitário após análise e discussão dos resultados dos seus cavalos. Esta animadora

abertura permite pensar que o imperativo envolvimento dos médicos veterinários na monitorização e elaboração de programas de controlo parasitário é possível e desejável. O exemplo da Dinamarca onde a prescrição de anti-helmínticos foi tornada obrigatória e proibido o seu uso em tratamentos profiláticos e rotineiros em 1999, espelha bem os benefícios desse envolvimento. Um questionário desenvolvido em 2004 neste país revelou que 97% dos inquiridos realizam COF como forma de diagnóstico e de monitorização. A prescrição obrigatória pode ser, assim, um meio para aumentar o nível de vigilância dos estrongilídeos (Nielsen *et al.*, 2006b).



## 8. Conclusão

Através do trabalho de investigação realizado foi possível conhecer os níveis de parasitismo e a sua dinâmica num grupo de cavalos de toureio, actividade com grande tradição em Portugal. Os resultados obtidos revelaram que o parasitismo por strongilídeos, nomeadamente por ciatostomíneos, neste grupo de cavalos de trabalho é extremamente importante. Registou-se uma prevalência média anual de 66%, sendo que 91% do total de animais e 100% das explorações estavam parasitados pelo menos uma vez durante o período de estudo. Os cavalos de toureio analisados apresentaram um OPG médio de 396, representando o Verão e o Outono as épocas em que se registaram valores máximos desse valor. O género *Cyathostomum sensu latu* foi o mais abundante (97.3%) e prevalente (53.9%). Nenhuma larva infectante do género *Strongylus* foi identificada.

Adicionalmente também se conclui que a idade se encontra negativamente correlacionada com número de OPG, havendo uma tendência para que as infecções moderadas e graves estejam presentes nos animais mais jovens, e que as corridas de touros e, provavelmente, o stress inerente a elas, influenciam a eliminação de ovos de strongilídeos de alguns equídeos.

Este trabalho permitiu constatar igualmente que os programas de controlo parasitário são realizados sem conhecimento do nível parasitário dos cavalos e, por vezes, independentemente da epidemiologia dos strongilídeos. Os produtos são, muitas vezes, escolhidos aleatoriamente, podendo contribuir para o desenvolvimento de resistências. Além disso, os cavalos introduzidos nas explorações estão muitas vezes parasitados e vão induzir uma subida dos seus níveis de OPG, uma vez que não é prática comum a pesquisa parasitológica. É, então aconselhável e necessário um maior envolvimento dos médicos veterinários na monitorização e elaboração de programas de controlo parasitário.

A informação presente neste trabalho, nomeadamente sobre a prevalência de animais parasitados, o OPG e sua dinâmica ao longo do ano e a influência das corridas na eliminação de ovos fecais poderá ser uma base para novos estudos em cavalos de toureio e para um adequado programa de controlo parasitário neste grupo de equinos.

## Bibliografia

- Agrícola, R., Jorge, H., Barbosa, M., Madeira de Carvalho, L.M. & Fazendeiro, I.M. (1999). Influência do período de desbaste de cavalos nos níveis de parasitismo gastrointestinal e em alguns parâmetros hemáticos. *VI Congresso Ibérico de Parasitologia, 21-24 Setembro 1999, Córdoba, Espanha*. Acta Parasitológica Portuguesa, p.169.
- Arneberg, P., Skorping, A., Grenfell, B. & Read, A.F. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of The Royal Society*, 265, 1283-1289.
- Baptista, A.M.L. (2008), *Estudo Parasitológico De Algumas Explorações Coudélicas Do Norte Alentejano*. Relatório de Estágio de Licenciatura em Enfermagem Veterinária, Escola Superior Agrária de Elvas, Instituto Politécnico de Portalegre, 59 pp.
- Baudena, M.A., Chapman, M.R., French, D.D. & Klei, T.R. (2000). Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, 88 (1-2), 51-60.
- Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K. & Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): an investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2),116-122.
- Bodecek, S., Jahn, P., Dobesova, O. & Vavrouchova, E. (2010). Equine cyathostomosis: case reports. *Veterinarni Medicina*, 55, (4): 187–193.
- Bowman, D.D., Lynn, R.C., Eberhard, M.L. & Alcaraz, A. (2003). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, (8ª edição), (pp. 174-180; 287-300). Philadelphia W.B. Saunders Company.
- Brady, H. A., Nichols, W. T., Blaneck, M. & Hutcheson, D. P. (2008). Parasite Resistance and the Effects of Rotational Deworming Regimens in Horses In: *54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners - AAEP, - San Diego, USA*, (pp. 308-313). Acedido Maio 28, 2011, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2008/Brady/chapter.asp>
- Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Araujo, J.M., Carvalho, R.O., Tavela, A.O., Campos, A.K. & Carvalho, G.R. (2009). Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 163 (4), 335-40.
- Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Carvalho, R.O., Araujo, J.M., Ferreira, S.R. & Benjamin, L.A. (2010) Predatory activity of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on horse cyathostomin infective larvae. *Tropical Animal Health and Production*, 42 (6), 1161-5.
- Brianti, E., Giannetto, S., Traversa, D., Chirgwin, S.R., Shakya, K. & Klei T.R. (2009). In vitro development of cyathostomin larvae from the third stage larvae to the fourth stage: morphologic characterization, effects of refrigeration, and species-specific patterns. *Veterinary Parasitology*, 163 (4), 348-56.

- Bucknell, D.G., Gasser, R.B. & Beveridge, I. (1995). The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*, 25(6), 711-24.
- Chapman, M.R., French, D.D., Monahan, C.M. & Klei, T.R. (1996). Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. *Veterinary Parasitology*, 66 (3-4), 205-12.
- Chapman, M.R., Kearney, M.T. & Klei, T.R. (2003). Equine cyathostome populations: accuracy of species composition estimations. *Veterinary Parasitology*, 116 (1), 15-21.
- Collobert, C., Gillet, J.P., Sorel, P. & Minnebo, J. (1990). Chronic pancreatitis associated with diabetes mellitus in a standardbred race horse: A case report. *Journal of Equine Veterinary Science*, 10 (1), 58-61.
- Collobert-Laugier, C., Hoste, H., Sevin, C. & Dorchies, P. (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, 110 (1-2), 77-83.
- Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasite & Vectors*, (2 Suppl 2), S1 1-6.
- Costa, R.B. (2011). *Caracterização do parasitismo gastrinestinal em cavalos de desporto e lazer no distrito de Coimbra*. Dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - UTL.
- Courtney, C.H. (1999). Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 173-177.
- Craig, T.M., Bowen, J.M. & Ludwig, K.G. (1983). Transmission of equine cyathostomes (Strongylidae) in central Texas. *American Journal of Veterinary Research*, 44 (10), 1867-9.
- DeLay, J., Peregrine, A.S. & Parsons, D.A. (2001). Verminous arteritis in a 3-month-old thoroughbred foal. *Canadian Veterinary Journal*, 42 (4), 289-91.
- Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G., Boersema, J.H. & Eysker, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in Dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology*, 124 (3-4), 249-58.
- Duncan, J.L. (1973). The life cycle, pathogenesis and epidemiology of *S. vulgaris* in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 5 (1), 20-5.
- Duncan, J.L. & Pirie, H.M. (1975). The pathogenesis of single experimental infections with *Strongylus vulgaris* in foals. *Research in Veterinary Science*, 18(1), 82-93.
- Duncan, J.L. & Love, S. (1990). Strongylose équine à *S. vulgaris*. *Point Veterinaire*, 21(126), 849-857.
- Duncan, J.L., Bairden, K. & Abbott, E.M. (1998). Elimination of mucosal cyathostome larvae by five daily treatments with fenbendazole. *Veterinary Record*, 142(11), 268-71.
- Eysker, M., Jansen, J. & Mirck, M.H. (1984). Inhibited development of cyathostominae in the horse in the early third stage. *Research in Veterinary Science*, 37(3), 355-6.

- Francisco, I., Arias, M., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Dacal, V., Suárez, J.L., Uriarte, J., Morondo, P., Sánchez-Andrade, R., Díez-Baños, P. & Paz-Silva, A. (2009). Intrinsic Factors Influencing the Infection by Helminth Parasites in Horses under an Oceanic Climate Area (NW Spain). *Journal of Parasitology Research*. 2009, 5pp.
- Gawor, J.J. (1995). The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Veterinary Parasitology*, 58 (1-2), 99-108.
- Gersão, S. & Madeira de Carvalho, L.M. (2005). Parasitas gastro-intestinais em equinos: A influência do stress na eliminação de ovos nas fezes e em parâmetros hemáticos. *IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005*. Acta Parasitológica Portuguesa, 12 (1-2), 75.
- Herd, R.P., Willardson, K.L. & Gabel, A.A. (1985). Epidemiological approach to the control of horse strongyles. *Equine Veterinary Journal*, 17 (3), 202-7.
- Herd, R.P. (1986). Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket. *Equine Veterinary Journal*. 18 (6), 447-52.
- Herd, R.P. (1995). A 10-point plan for equine worm control. *Veterinary Medicine*, 90(5), 481-485.
- Hinney, B., Wirthlerle, N.C., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K.H. & Clausen, P.H. (2011). Prevalence of helminths in horses in the state of Brandenburg, Germany. *Parasitology Research*, 108 (5), 1083-91.
- Hodgkinson, J.E. (2006). Molecular diagnosis and equine parasitology. *Veterinary Parasitology*, 136(2), 109-16.
- Hubert, J.D., Seahorn, T.L., Klei, T.R., Hosgood, G., Horohov, D.W. & Moore, R.M. (2004). Clinical signs and hematologic, cytokine, and plasma nitric oxide alterations in response to *Strongylus vulgaris* infection in helminth-naïve ponies. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 68 (3), 193-200.
- Hutchens, D.E. & DiPietro, J.A. (1996). The Effect of Biweekly Treatment With Fenbendazole on Benzimidazole-Resistant Small Strongyles. *Equine practice*, 18 (2) 10-13.
- Instituto de Meteorologia (2009). *Normais climatológicas e acompanhamento do clima*. Acedido em Junho 28, 2011, disponível em: <http://www.meteo.pt/pt/>
- Klei, T.R. & Chapman, M.R. (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 123-133.
- Kornaś, S., Gawor, J., Cabaret, J., Molenda, K., Skalska, M. & Nowosad, B. (2009). Morphometric identification of equid cyathostome (Nematoda: Cyathostominae) infective larvae. *Veterinary Parasitology*, 162 (3-4), 290-4.
- Kornaś, S., Cabaret, J., Skalska, M. & Nowosad, B. (2010). Horse infection with intestinal helminths in relation to age, sex, access to grass and farm system. *Veterinary Parasitology*, 174 (3-4), 285-91.
- Kuzmina, T.A., Kuzmin, Y.I. & Kharchenko, V.A. (2006). Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. *Veterinary Parasitology*, 141 (3-4), 264-72.

- Kuzmina, T.A., Tolliver, S.C. & Lyons, E.T. (2011). Three recently recognized species of cyathostomes (Nematoda: Strongylidae) in equids in Kentucky. *Parasitology Research*, 108 (5), 1179-84.
- Langrova, I., Jankovska, I., Borovsky, M. & Fiala, T. (2003). Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. *Veterinarni Medicina - UZPI*, 48 (1-2), 18-24.
- Larsen, M.L., Ritz, C., Petersen, S.L. & Nielsen, M.K. (2011). Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *The Veterinary Journal*, 188 (1), 44-7.
- Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A., Krecek, R.C. & Gibbons, L.M. (1998). An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Veterinary Parasitology*, 79 (1), 65-79.
- Lichtenfels, J.R., Gibbons, L.M. & Krecek, R.C. (2002). Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses. *Veterinary Parasitology*, 107 (4), 337-42.
- Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A. & Dvojnok, G.M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*, 156 (1-2), 4-161.
- Love, S., Escala, J., Duncan, J.L. & MacLean, J.M., (1991). Studies on the pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Equine Infectious Disease VI, Proceedings of the 6th International Conference of Equine Infectious Diseases, Cambridge, Newmarket, R and W Publications*, pp. 149-155.
- Love, S., Mair, T.S. & Hillyer, M.H. (1992). Chronic diarrhoea in adult horses: a review of 51 referred cases. *Veterinary Record*, 130 (11), 217-9.
- Love, S. & Duncan, J.L. (1992). The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies. *Veterinary Parasitology*, 44(1-2), 127-42.
- Love, S. (1992). Review article: The role of equine strongyles in the pathogenesis of colic and current options for prophylaxis. *Equine Veterinary Journal*, 24 (S13), 5-9.
- Love, S., Murphy, D. & Mellor, D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 113-121.
- Love, S. (2003). Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 19 (3):791-806.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H., Stamper, S., Swerczek, T.W. & Granstrom, D.E. (1996). Critical test evaluation (1977-1992) of drug efficacy against endoparasites featuring benzimidazole-resistant small strongyles (population S) in Shetland ponies. *Veterinary Parasitology*, 66 (1-2), 67-73.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Drudge, J.H. (1999). Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 97-111.
- Lyons, E.T., Drudge, J.H. & Tolliver, S.C. (2000). Larval cyathostomiasis. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, 16 (3), 501-13.

- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H., Collins, S.S. & Swerczek, T.W. (2001). Continuance of studies on Population S benzimidazole-resistant small strongyles in a Shetland pony herd in Kentucky: effect of pyrantel pamoate (1992-1999). *Veterinary Parasitology*, 94 (4), 247-56.
- Lyons, E.T. & Tolliver, S.C. (2003). Field test data on small strongyles in evaluation of activity of fenbendazole given once a day for 5 consecutive days to thoroughbred yearlings on two farms in Kentucky in 2002 and 2003. *Parasitology Research*, 91 (4), 312-5.
- Lyons, E.T. & Tolliver, S.C. (2004). Prevalence of parasite eggs (*Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum*, and strongyles) and oocysts (*Eimeria leuckarti*) in the feces of Thoroughbred foals on 14 farms in central Kentucky in 2003. *Parasitology Research*, 92 (5), 400-4.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Collins, S.S. (2006). Prevalence of large endoparasites at necropsy in horses infected with Population B small strongyles in a herd established in Kentucky in 1966. *Parasitology Research*, 99 (2), 114-8.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. & Collins, S.S. (2008). Evaluation of parasiticide activity of fenbendazole, ivermectin, oxbendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research*, 103 (2), 287-91.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Collins, S.S. (2009). Probable reason why small strongyle EPG counts are returning "early" after ivermectin treatment of horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitology Research*, 104 (3), 569-74.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Kuzmina, T.A. & Collins, S.S. (2010). Critical tests evaluating efficacy of moxidectin against small strongyles in horses from a herd for which reduced activity had been found in field tests in Central Kentucky. *Parasitology Research*, 107 (6), 1495-8.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., Ionita, M., Kuzmina, T.A. & Rossano, M. (2011a). Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin and moxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitology Research*, 108 (2), 355-60.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Collins, S.S. (2011b). Reduced activity of moxidectin and ivermectin on small strongyles in young horses on a farm (BC) in Central Kentucky in two field tests with notes on variable counts of eggs per gram of feces (EPGs). *Parasitology Research*, 108 (5), 1315-9.
- Madeira de Carvalho, L.M. (1991). *Contribuição para o estudo dos estromgilídeos (nematoda: Strongyloidea do cavalo em Portugal continental*. Prova de aptidão pedagógica e capacidade científica. (pp. 117-136). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2000). *Disciplina de parasitologia: notas de apoio às aulas práticas*. (pp. 58-88). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2001). *Epidemiologia e controlo da estromgilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de dissertação de doutoramento. (pp. 128-373). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.

- Madeira de Carvalho, L.M. (2003a). Estrongilídeos dos equídeos – importância em produção equina, sistemática, taxonomia e biologia (I) *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 57, 16-36.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2003b). Estrongilídeos dos equídeos – importância em produção equina, sistemática, taxonomia e biologia (II) *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 58, 6-15.
- Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, M.I. & Afonso-Roque, M.M. (2005). Estudo do padrão sazonal dos ovos e larvas de estrongilídeos do cavalo numa exploração do Ribatejo, através da contaminação de parcelas experimentais em pastagens espontâneas de sequeiro. *IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005. Acta parasitológica portuguesa* 12 (1-2): 285.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2006a). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais a animais de companhia. I – Impacte nas doenças parasitárias. *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 62, 13-24.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2006b). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais a animais de companhia. II – Implicações no controlo das parasitoses gastrintestinais. *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 63, 4-20.
- Madeira de Carvalho, L. M., Gillespie, A. T., Serra, P. M., Bernardo, F.A., Farrim, A. P. & Fazendeiro, I. M. (2007a). Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrongilidose equina no Ribatejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 102 (563-564), 233-247.
- Madeira de Carvalho, L.M., Gomes, L., Cernea, M., Cernea C., Santos S.A., Bernardes, N., Rosário, M.A., Soares, M.J. & Fazendeiro, I. (2007b). Parasitismo gastrointestinal e seu controlo em asininos e híbridos estabulados. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinária*, 102 (563-564), 225-231.
- Mair, T.S. (1994). Outbreak of larval cyathostomiasis among a group of yearling and two-year-old horses. *Veterinary Record*, 135 (25), 598-600.
- Mair, T.S. & Pearson, G.R. (1995). Multifocal non-strangulating intestinal infarction associated with larval cyathostomiasis in a pony. *Equine Veterinary Journal*. 27(2), 154-5.
- Martins, S., Sousa, S. & Madeira de Carvalho, L.M. (2005). Métodos de controlo parasitário utilizados por criadores e proprietários de cavalos em Portugal continental: identificação de factores de risco para o aparecimento de resistências aos anti-helmínticos. *IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005. Acta parasitológica portuguesa*, 2005 12 (1-2): 137.
- Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., Dowdall, S.M. & Proudman, C.J. (2004). Recent developments in research into the Cyathostominae and Anoplocephala perfoliata. *Veterinary Research*, 35 (4), 371-81.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O. (1974). Early development of and pathology associated with *Strongylus edentatus*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 38(2), 124-38.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O. (1976). *Strongylus vulgaris* in the horse: a review. *The Canadian Veterinary Journal*. 17(6), 150-7.

- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O. (1978). *Strongylus edentatus*: development and lesions from ten weeks postinfection to patency. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 42(3), 340-56.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O. (1985). *Strongylus equinus*: development and pathological effects in the equine host. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49 (4), 372-383.
- Meana, A. (2008). Equine parasitology in Spain: recent data on prevalence and worming practices. *Proceedings de 36èmes journées annuelles de l'association vétérinaire équine française - Reims, France, 9-11 Outubro 2008*. (pp. 16-19). Acedido em Maio 27, 2011, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/avef/2008/session2/2.pdf>
- Medica, D.L. Hanaway, M.J., Ralston, S.L. & Sukhdeo, M.V.K. (1996). Grazing behavior of horses on pasture: Predisposition to strongylid infection? *Journal of equine veterinary science*. 16 (10), 421-427.
- Medica, D.L. & Sukhdeo, M.V. (1997). Role of lipids in the transmission of the infective stage (L3) of *Strongylus vulgaris* (Nematoda: Strongylida). *The Journal of Parasitology*, 83 (5), 775-779.
- Mfitilodze, M.W. & Hutchinson, G.W. (1987). Development and survival of free living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 23 (1-2), 121-33.
- Milillo, P., Boeckh, A., Cobb, R., Otranto, D., Lia, R.P., Perrucci, S., di Regalbano, A.F., Beraldo, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Bartolini, R. & Traversa, D. (2009). Faecal cyathostomin egg count distribution and efficacy of anthelmintics against cyathostomins in Italy: a matter of geography?. *Parasite & Vectors*, 2 (Suppl 2), S4 1-7.
- Monahan C. (2000). Anthelmintic control strategies for horses. *Companion and Exotic Animal Parasitology*, D.D. Bowman (Ed.). (pp. 1-11). Acedido Março 17, 2011, disponível em: [http://www.ivis.org/advances/Parasit Bowman/monahan\\_equine/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/advances/Parasit Bowman/monahan_equine/chapter_frm.asp?LA=1)
- Mughini Gras, L., Usai, F. & Stancampiano, L. (2011). Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: Epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite self-regulation. *Veterinary Parasitology*, 179 (1-3), 167-74.
- Murphy, D., Reid, S.W., Graham, P.A. & Love, S. (1997). Fructosamine measurement in ponies: validation and response following experimental cyathostome infection. *Research in Veterinary Science*. 63 (2), 113-8.
- Murphy D, Love S. (1997). The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Veterinary Parasitology*, 70(1-3), 99-110.
- Murray, M.J. (2003). Treatment of equine gastrointestinal parasites. *8th Congress on Equine Medicine and Surgery, Ithaca, USA*. (pp. 1-6). Acedido em Março, 17, 2011, disponível em: [http://www.ivis.org/proceedings/Geneva/2003/Murray3/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/proceedings/Geneva/2003/Murray3/chapter_frm.asp?LA=1)
- Nielsen, M.K., Haaning, N. & Olsen, S.N. (2006a). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135 (3-4), 333-335.



- Nielsen, M.K., Monrad, J. & Olsen, S.N. (2006b). Prescription-only anthelmintics – a questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135 (1), 47-55.
- Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J. & Olsen, S.N. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Veterinary Journal*, 174 (1), 23-32.
- Nielsen, M.K. & Kaplan, R.M. (2008). Evidence-based equine parasitology: It ain't the 60s anymore. *Proceedings des 36èmes journées annuelles de l'association vétérinaire équine française - Reims, France* (pp. 10-14) Acedido Março 17, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/avef/2008/session2/1.pdf>
- Nielsen, M.K. (2009). Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences. *Parasites & Vectors*, 2 (2), S7 1-7.
- Nielsen, M.K., Baptiste, K.E., Tolliver, S.C., Collins, SS & Lyons, E.T. (2010a). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Veterinary Parasitology*, 174 (1-2), 77-84.
- Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Andersen, U.V., Delisi, K., Pilegaard, K. & Kaplan, R.M. (2010b) Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Veterinary Parasitology*, 167 (1), 55-61.
- Ogbourne, C.P. (1976). The prevalence, relative abundance and site distribution of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. *Journal of Helminthology*, 50 (3), 203-14.
- Ogbourne, C.P. (1978). Pathogenesis of cyathostome (*Trichonema*) infections of the horse. A review. *Commonwealth Agricultural Bureaux, Commonwealth Institute of Parasitology, Miscellaneous publication N°5*, 25pp.
- Osterman Lind, E., Höglund, J., Ljungström, B.L., Nilsson, O. & Uggla, A. (1999). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*, 31 (1), 68-72.
- Patton, S. & Drudge, J.H. (1977). Clinical response of pony foals experimentally infected with *Strongylus vulgaris*. *American Journal of Veterinary Research*, 38(12), 2059-66.
- Peregrine, A.S., McEwen, B., Bienzle, D., Koch, T.G. & Weese, J.S. (2006). Larval cyathostominosis in horses in Ontario: an emerging disease? *The Canadian Veterinary Journal*. 47 (1), 80-2.
- Ramsey, Y.H., Christley, R.M., Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., McGoldrick, J. & Love, S. (2004). Seasonal development of Cyathostominae larvae on pasture in a northern temperate region of the United Kingdom. *Veterinary Parasitology*, 119 (4), 307-18.
- Reilly, G.A, Cassidy, J.P. & Taylor, S.M. (1993). Two fatal cases of diarrhoea in horses associated with larvae of the small strongyles. *Veterinary Record*, 132(11), 267-268.
- Reinemeyer, C.R. (1986). Small strongyles. Recent advances. *Veterinary Clinic of North America Equine Practice*, 2(2), 281-312.

- Reinemeyer C.R. (2008). Parasite control recommendation for horses during the first year of life. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Texas, USA* (pp. 143-154). Acedido Março 17, 2011, disponível em: <http://www.ivis.org/>
- Reinemeyer, C.R. (2009) Controlling strongyle parasites of horses: a mandate for change. *Proceedings of the 55th annual convention the American Association of Equine Practitioners - Las Vegas, USA* (pp. 353-360). Acedido em Fev. 20, 2011, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2009/z9100109000352.pdf>
- Rossano, M.G., Smith, A.R. & Lyons, E.T. (2010). Shortened strongyle-type egg reappearance periods in naturally infected horses treated with moxidectin and failure of a larvicidal dose of fenbendazole to reduce fecal egg counts. *Veterinary Parasitology*, 173 (3-4), 349-52.
- Rupasinghe, D. & Ogbourne, C.P. (1978). Laboratory studies on the effect of temperature on the development of the free-living stages of some strongylid nematodes of the horse. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 55, 249-253.
- Sánchez-Andrade, R., Francisco, I., Cortñas, F.J., Sánchez, J.A., Francisco, R., Dacal, V., Arias, M., Suárez, J.L., Morrondo, P., Valero, R., López-Arellano, M.E., Mendoza de Gives, P. & Paz-Silva, A. (2009). Análisis in vitro del hongo *Duddingtonia flagrans* para el control biológico de estróngilos de équidos. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 16 (1/2), 60.
- Silva, A.V., Costa, H.M., Santos, H.A. & Carvalho, R.O. (1999). Cyathostominae (Nematoda) parasites of *Equus caballus* in some Brazilian states. *Veterinary Parasitology*, 86 (1)15-21.
- Slocombe, J.O., Valenzuela, J., & Lake, M.C. (1987). Epidemiology of strongyles in ponies in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51 (4), 470-474.
- Soulsby, L. (2007). New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: the role of refugia. *Veterinary Journal*, 174 (1), 6-7.
- Stancampiano, L., Mughini Gras, L. & Poglayen, G. (2010). Spatial niche competition among helminth parasites in horse's large intestine. *Veterinary Parasitology*, 170 (1-2), 88-95.
- Tavela Ade, O., Araújo, J.V., Braga, F.R., Silva, A.R., Carvalho, R.O., Araujo, J.M., Ferreira, S.R. & Carvalho, G.R. (2011). Biological control of cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) with nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* in tropical southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 175 (1-2), 92-6.
- Tarazona Vilas, J.M. (1999). Estrongilidosis causadas por grandes y pequeños estrongilos. In M. Cordero del Campillo, F. A. Rojo Vázquez, A.R. Martines Fernández, C. Sánchez Acedo, S. Hernández Rodríguez, I. Navarrete López-Cozar, P. Díez Baños, H. Quiroz Romero & M. Carvalho Varela, *Parasitología Veterinaria*. (pp. 545-560). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Thienpoint, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de las helminthiasis por médio del examen coprológico*. (2ª edição). (pp. 69-89). Beerse,Belgium: Janssen Research Foundation.

- Traversa, D., Milillo, P., Barnes, H., von Samson-Himmelstjerna, G., Schurmann, S., Demeler, J., Otranto, D., Lia, R.P., Perrucci, S., Frangipane di Regalbono, A., Beraldo, P., Amodie, D., Rohn, K., Cobb, R. & Boeckh, A. (2010). Distribution and species-specific occurrence of cyathostomins (Nematoda, Strongylida) in naturally infected horses from Italy, United Kingdom and Germany. *Veterinary Parasitology*, 168 (1-2), 84-92.
- Uhlinger, C.A. (2007). Evidence-based parasitology in horses. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. 23(2):509-17.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). *Parasitologia veterinária*. (2<sup>a</sup> ed.). (pp. 37-41). Oxford: Blackwell Science Limited.
- Varady, M., Konigova, A., Corba, J. (2004). A field study to evaluate the efficacy of fenbendazole on 9 stud farms. *Veterinarni Medicina - UZPI*, 49 (2), 42-46.
- von Samson-Himmelstjerna, G., Traversa, D., Demeler, J., Rohn, K., Milillo, P., Schurmann, S., Lia, R., Perrucci, S., di Regalbono, A.F., Beraldo, P., Barnes, H., Cobb, R. & Boeckh, A. (2009). Effects of worm control practices examined by a combined faecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasite & Vectors*, 2 (Suppl 2), S3 1-7.

# Anexos

## Anexo 1 – Inquérito

### I – Controlo parasitário

#### 1- Frequência de desparasitação por ano

(Assinale com um X a opção pretendida)

Desparasitação 1 vez por ano	
Desparasitação 2 vezes por ano	
Desparasitação 3 vezes por ano	
Desparasitação 4 vezes por ano	
Mais de 4 desparasitações por ano	

#### 2- Quando desparasita?

(Assinale com um X a opção pretendida)

Primavera	
Verão	
Outono	
Inverno	

#### 3- A data da última desparasitação.

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### 4- Qual/ quais o(s) desparasitante(s) que costuma utilizar?

\_\_\_\_\_

#### 5- Faz rotação de desparasitantes?

(Assinale com um X a opção pretendida)

Sim	
Não	

#### 5.1- Caso tenha respondido Sim a última questão, diga qual o critério para essa rotação.

(Assinale com um X a opção pretendida)

Trimestral	
Semestral	
Anual	
Sem Critério	

Outro: \_\_\_\_\_

**6. Monitoriza os níveis de parasitismo dos seus cavalos?**

(Assinale com um X a opção pretendida)

Sim	
Não	

**7. Avalia a eficácia das desparasitações?**

(Assinale com um X a opção pretendida)

Sim	
Não	

**II- Os cavalos e as corridas de touros.**

**1- Em média quantas corridas tem por temporada?**

(Assinale com um X a opção pretendida)

<5	
5 a 10	
10 a 20	
20 a 30	
30 a 40	
>40	

**2- Em alguma altura do ano os cavalos têm acesso à pastagem?**

Sim	
Não	

**3.1- Se sim, em que altura? \_\_\_\_\_.**

Obrigado pela sua colaboração.

## **Anexo 2 – Método de flutuação de Willis** (Thienpoint *et al.*, 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Atribuir a cada amostra um número.
2. Identificar os copos de plástico e os tubos de ensaio.
3. Homogeneizar as amostras.
4. Colocar, com a ajuda de uma espátula, cerca de 2 gramas de fezes em cada copo e adicionar a solução saturada de sacarose.
5. Emulsionar a mistura.
6. Passar o conteúdo de cada copo para o correspondente tubo de ensaio, através de um passador até obter um menisco convexo no topo do tubo de ensaio (lavar o passador a cada utilização para evitar contaminações cruzadas das amostras).
7. Cobrir cada tubo com as lamelas.
8. Esperar 15 a 20 minutos.
9. Cobrir as lâminas previamente identificadas com as lamelas obtidas anteriormente.
10. Observar ao microscópio

### **Anexo 3 – Método de sedimentação natural** (Thienpoint *et al.*, 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Utilizar o sedimento do método de Willis (ver Anexo 1).
2. Deixar sedimentar o conteúdo dos tubos de ensaio do método de Willis e retirar o sobrenadante.
3. Se necessário proceder à lavagem do sedimento.
4. Adicionar algumas gotas de corante azul-de-metileno aos tubos de ensaio.
5. Com ajuda de pipetas Pasteur (uma para cada tubo) colocar uma gota da solução em cada uma das lâminas previamente identificadas.
6. Cobrir com lamelas e observar ao microscópio.

## **Anexo 4 – Método de MacMaster** (Thienpoint *et al.*, 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico.
3. Diluir 2 gramas de fezes de cada amostra em 28 ml de solução saturada (medidos em proveta graduada).
4. Filtrar, homogeneizar e introduzir a suspensão nas câmaras de MacMaster.
5. Deixar as lâminas repousar alguns minutos.
6. Observar ao microscópio óptico, focando a camada superior onde se encontram focadas as linhas da grade da câmara.
7. Proceder à contagem na totalidade das células da Câmara de MacMaster e multiplicar o número obtido por 50 de modo a obter o número de ovos por grama de fezes (OPG).



## **Anexo 5 – Coproculturas** (Madeira de Carvalho, 2001)

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico com uma caneta de acetato (número da amostra, data da colheita e dia a retirar a coprocultura da estufa).
3. Colocar uma quantidade de fezes previamente pesada (cerca de 50/ 60 gramas) registar o peso correspondente.
4. Deixar as fezes não compactas e realizar um orifício no centro das mesmas com auxílio de uma vareta.
5. Cobrir os copos das coproculturas com papel de alumínio e perfurar o mesmo com uma pinça.
6. Colocar os copos de coprocultura num tabuleiro com água no fundo do mesmo.
7. Colocar na estufa a 26 °C.
8. Após 14 dias retirar as coproculturas da estufa.
9. Retirar o papel de alumínio de todos os copos e encher os mesmos com água até ao seu bordo superior.
10. Inverter os copos sobre placas de Petri e preencher o espaço restante das placas com água.
11. Deixar os copos repousar durante um período de 24 horas.
12. Colocar a suspensão remanescente nas caixas de Petri em tubos de ensaio previamente identificados.
14. Armazenar os tubos de ensaio cobertos com Parafilm® no frigorífico para posterior observação.

## Anexo 6 – Identificação das L3 (Madeira de Carvalho, 2001)

1. Larvas sem bainha \_\_\_\_\_ 2  
Larvas com bainha \_\_\_\_\_ 3
  
2. Esófago radtiforme (com bulbo), presença de machos, fêmeas e ovos \_\_\_\_\_ Nematóides de vida livre  
Esófago filariforme, >1/3 do comprimento do corpo, cauda da larva termina em forma de “v” pequeno \_\_\_\_\_ Strongyloides westeri
  
3. Cauda da bainha muito curta, 80 a 115 µm do ânus à extremidade posterior da bainha, não apresentando forma de chicote, com comprimento total médio de 738,1 µm \_\_\_\_\_ Trichostrongylus axei  
Cauda da bainha comprida (≥ 175 µm) e em forma de chicote \_\_\_\_\_ 4
  
4. Larvas de tamanho médio com 6 a 9 células intestinais, com comprimentos totais médios de 773,3 a 886 µm \_\_\_\_\_ 5  
Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células intestinais, comprimentos totais médios de 730,7 a 991,7 µm \_\_\_\_\_ 8
  
5. Larvas de tamanho médio com 8 células intestinais com organização e forma bem definidas, comprimentos totais médios de 773,3 a 886 µm — 6 (*Cyathostomum*, s.l. tipos A, B, C e D)  
Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células intestinais, comprimentos totais médios de 812 a 848 µm \_\_\_\_\_ 7 (*Cyathostomum*, s.l. tipos E, F, G e H)
  
6. Larvas de dimensão média com 8 células intestinais, em que as duas primeiras (triangulares ou retangulares) formam uma fila dupla e as restantes seis (trapezoidais ou rectangulares) formam uma fila única, comprimento total médio de 811,9 µm \_\_\_\_\_ *Cyathostomum* spp. tipo A  
Larvas de dimensão média com 8 células intestinais triangulares ou pentagonais arranjadas em fila dupla, comprimento total médio de 828,2 µm — *Cyathostomum* spp. tipo B  
Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais, em que as quatro primeiras formam uma fila dupla (pentagonais, triangulares ou rectangulares) e as restantes quatro (trapezoidais) estão arranjadas em fila única, comprimento total médio de 847,8 µm \_\_\_\_\_ *Cyathostomum* spp. tipo C

Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais em fila única com forma trapezoidal ou triangular, comprimento total médio de 842,8 µm — *Cyathostomum* spp. tipo D

7. Larvas de pequena dimensão com 6 células intestinais triangulares e/ou trapezoidais, com arranjo diverso, em fila dupla ou única, <comprimento total médio deste grupo, 773,3 µm — *Cyathostomum* spp. tipo E

Larvas de média dimensão com 7 células intestinais triangulares e trapezoidais alongadas. Arranjo diverso, 2-4 células em fila dupla e as restantes em fila única ou arranjo misto. Comprimento total médio de 842,2 µm — *Cyathostomum* spp. tipo F

Larvas de média a grande dimensão com 8 células triangulares e/ou rectangulares (alongadas e estreitas), trapezoidais (porção distal), arranjo diverso, comprimento total médio de 847,8 µm — *Cyathostomum* spp. tipo G

Larvas de grande dimensão com 9 células intestinais triangulares alongadas, as primeiras 6 em filas dupla e as restantes em fila única, >comprimento total médio deste grupo, 886 µm — *Cyathostomum* spp. tipo H

8. Larvas com 12 células intestinais arranjadas em fila dupla (células com forma rectangular e pentagonal), ou 6-10 células emparelhadas e as restantes em fila única (trapezoidal e triangular), com comprimento total médio de 730,7 µm — *Gyalocephalus capitatus*  
Larva com mais de 12 células intestinais — 9

9. Larvas com 16 células intestinais — 10  
Larvas com mais de 16 células intestinais — 12

10. Larvas de dimensão média (comprimento médio de 785,7 µm e largura média de 27,6 µm), com células intestinais rectangulares e pentagonais, com uma proporção corpo da larva/ porção distal (cl/pd)= 2,1:1 — *Poteriostomum* spp.  
Larvas de dimensão grande — 11

11. Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 991,7 µm e largura média de 34,5 µm), com intestino longo (415 µm) e com células grandes, distintas, de forma triangular, por vezes pentagonais alongadas, proporção cl/pd=2,4:1 — *Oesophagodontus robustus*

Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 862,4 µm e largura de 29,2), com células rectangulares (células proximais, em fila dupla), pentagonais e triangulares (células distais, em posição intermédia ou com uma única célula terminal) proporção cl/pd=1,8:1 ————— *Craterostomum acuticaudatum*

Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 907 µm e largura média de 30,1 µm), com células proximais rectangulares alongadas e as restantes pentagonais, as duas células distais assimétricas, uma com metade do comprimento da outra mas com terminação ao mesmo nível, proporção cl/pd=4,1:1 ————— *Triodontophorus serratus*

Larvas de grande dimensão e finas (comprimento médio de 901 µm e largura média de 18,3 µm), células intestinais pouco diferenciadas, transição pouco distinta entre esófago e o intestino, cauda da larva com um lobo na extremidade, cauda da bainha curta, proporção cl/pd=4,1:1 ————— *Strongylus equinus*

12. Larvas com 18 a 20 células intestinais ————— 13

Larvas com mais de 20 células intestinais ————— 14

13. Larvas de pequena a média dimensão, finas (comprimento médio de 788,5 µm e largura média de 22,5 µm), com células intestinais triangulares estreitas e alongadas, mal definidas, esófago curto, proporção cl/pd=2,2:1 — *Strongylus edentatus*

Larvas de média a grande dimensão, grossas (comprimento médio de 834,2 µm e largura média de 28,4 µm), com células intestinais pentagonais (mais frequentes), rectangulares e triangulares (células distais, justapostas ou em posição intermédia), esófago longo (cerca de 1/3 do comprimento do corpo da larva), proporção cl/pd=2,1:1 ————— *Triodontophorus* spp.\*

14. Larvas de grande dimensão e grossas (comprimento médio de 935,6 µm e largura média de 32,1 µm), com células intestinais pentagonais e triangulares, bem definidas e com coloração muito escura, esófago curto, proporção cl/pd=2,8:1 ————— *Strongylus vulgaris*

\*Excepto *Triodontophorus serratus*